

نظري وعملي

Blood Bank

Theory & Practice

تأليف
عبد الرحيم فطاير
كلية تدريب عمان

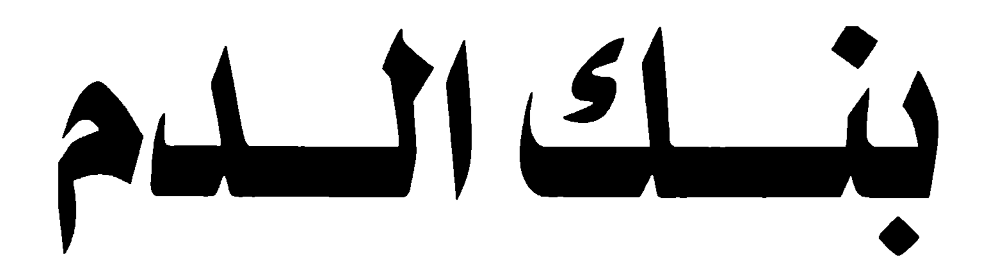


بنــك الــدم

نظــري وعمــلي

Blood Bank

Theory & Practice



بنك الدم

نظري وعملي

Blood Bank

Theory & Practice

تأليف

عبد الرحيم فطاير

كلية تدريب عمان



2006

610,6

عبد الرحيم فطاير

بنك الدم (نظري وعملي) / عبد الرحيم فطاير

عمان : دار الثقافة . 2006

رقـــــم الإيـــــداع : (1991/4/456)

الموضوع الرئيسي : / ١- بنك الدم /٢- العنوان/

● تم إعـــداد بيانات الفهرسة الأولية والتصنيف من قبل دائرة المكتبة الوطنية

الطبعة الأولى / الإصدار الثالث



المركز الرئيسي: عمان - وسط البلد - قرب الجامع الحسيني - عمارة الحجيري

هاتف: 4646361 6 962+ - فاكس: 4610291 6 962+ - ص.ب 1532 عمان 11118 الأردن

فرع الجامعة : شارع الملكة رانيا العبدالله (الجامعة سابقاً) - مقابل بوابة العلوم - مجمع عربيات التجاري

تلفون: - 5341929 6 962+ - فاكس: 5344929 6 962+ ص.ب 20412 عمان 11118 الأردن

www.daralthaqafa.com

E-mail : info@daralthaqafa.com

تصميم وإخراج

مكتب دار الثقافة للتصميم والإنتاج

تنفيذ وطباعة (رجي) بيروت - لبنان - تلفاكس: ٢٧٢٢٢٥ ٠٠٩٦١١ خليوي: ٣٣٤٦٤٨-٣١٢١٢٤ / ٠٠٩٦١٣

محتويات الكتاب

فهرس الأشكال الإيضاحية

فهرس الجداول الإيضاحية

بسم الله الرحمن الرحيم

مقدمة الكتاب

بعد الاتكال على الله تم بعونه تعالى وضع هذا الكتاب ليكون في متناول العرب العـاملين في المهن الطبية بشكل عام وفنيي المختبرات بشكل خاص ليساعدهم في استيعاب مادة بنك الدم.

يعـرف بنـك الـدم بأنـه مؤسسـة صحية تعمـل على تنظيم العلاقة بين المرضى والمتبرعين بحيث يستفيد أكبر عدد من المرضى من دم المتبرعين بشكل يمنع تعرضهم لأي من المضاعفات المحتملة أثناء التبرع بالدم أو نقله.

يحتوي هذا الكتاب على بابين. يتألف الباب الأول من اثني عشر فصل خصصت معـظمهـا لدراسـة المبـادىء النـظرية للنشـاطـات الفنية والإدارية الخاصة ببنوك الدم العـلاجية. علمـاً أن الفصـول الـرابـع والخامس والثاني عشر مخصصة لدراسة نظم المجمـوعـات الـدمـوية البروتينية والنظام الرئيسي في التوافق النسيجي والمجموعات الـدمـوية في الـطب الشـرعي على التـوالي. كما يتألف الباب الثاني من ستة فصول خصصت جميعها للتجارب العملية الخاصة بفصول الباب الأول.

تظهر في أول الكتاب فهارس خاصة بالأشكال والجداول الإيضاحية التي يحتويها. تم الجمع بين المصطلح الانجليزي ودلالته العربية التي يرتئيها المؤلف لدعم التعريب وزيادة الإيضاح وحفظ التواصل بين الدارسين والفكر العلمي العالمي. ينبغي التنويه إلى أن اقتراحات المؤلف الخاصة ببعض الممارسات العملية أينما ظهرت في الكتاب هي ثمرة خبرته وممارساته العملية الطويلة في المجالات المهنية والتعليمية.

يشكـر المؤلف كل من أسهم في اخـراج هذا الكتـاب إلى حيز الـوجود بالنصح والمشورة والطباعة ويسعده أن يتلقى اقتراحات المهتمين لرفع مستوى هذا الكتاب في الطبعات القادمة إنشاء الله.

والله من وراء القصد،،

المؤلف.

الباب الأول

مبادىء بنك الدم

Principle of Blood Bank

الفصل الأول

- التفاعلات المصلية الدموية
- الطبيعة الكيميائية لأنتيجينات الخلايا الحمراء وخصائصها وأنواعها وانتشارها.
- الطبيعة الكيميائية للأجسام المضادة وخصائصها وأنواعها وانتشارها.
- الليكتينات Lectins
- مظاهر التفاعلات المصلية (تكتل الخلايا الحمراء وتحللها)

التفاعلات المصلية الدموية

(Blood Serological Reactions)

تعرف التفاعلات المصلية بأنها تفاعل الأنتيجينات مع أجسامها المضادة وتستخدم لتصنيف الدم إلى مجموعات مميزة بناء على طبيعة الأنتيجينات في جدران الخلايا الحمراء. يعرّف الأنتيجين (Antigen = ag) بأنه المادة التي تحفز النظام المناعي للجسم ممثلاً بالخلايا الليمفاوية على تكوين الأجسام المضادة الخاصة بالأنتيجين.

يشير مصطلح عامل المجموعات الدموية (Blood Group factor) إلى الأنتيجين أو المركب الذي يتم الكشف عنه في جدران الخلايا الحمراء بالطرق المصلية باستخدام أجسام مضادة غير متخصصة كما هو الحال بالنسبة للعوامل A_2 و A_3 . يخضع نشوء انتيجينات المجموعات الدموية لقوانين ميندل الوراثية.

يعتبر الأنتيجين كاملاً (Complete) عندما يحفز النظام المناعي للجسم بتفاعله مع أجسامه المضادة أو الخلايا الليمفاوية. كما يعتبر الأنتيجين غير كامل (Incomplete) عندما يساهم في تكوين الأنتيجينات الكاملة ويتفاعل مع الأجسام المضادة ويعطل التفاعلات المصلية ولا يحفز النظام المناعي للجسم على تكوين أجسام مضادة.

يشار للأنتيجين غير الكامل أيضاً بهابتين (Hapten) ويتألف من مركب كيميائي بسيط. تعتبر قدرة الأنتيجين على إثارة النظام المناعي للجسم من خواصه الأساسية وتختلف باختلاف الأنتيجين والحيوان الذي يحقن فيه. يعتمد مدى تجاوب النظام المناعي لجسم الحيوان على كيفية دخول الأنتيجين إلى الجسم وعدد جرعاته وقوة كل واحدة منها. لا يتجاوب النظام المناعي لأي جسم إلاّ إذا دخله انتيجين جديد غير موجود فيه اصلاً.

تبين أن الأنتيجينات الجرثومية أقوى من أنتيجينات المجموعات الدموية التي بدورها أقوى بكثير من أنتيجينات الخلايا البيضاء أو الصفائح الدموية أو البلازما. تتفاعل الأنتيجينات مع أجسامها المضادة بتخصص مطلق بحيث لا يتفاعل أي أنتيجين إلاّ مع جسمه المضاد فقط.

تعتمـد الصفـات الحيوية لأي أنتيجين على صفاته الفيزيائية والكيميائية الممثلة بحجمه وشكله وطبيعته الكيميائية وعدد مراكزه النشيطة. يقدر الوزن الجزيئي لاصغر أنتيجين كامل بحوالي ٤٠٠٠ غم جزيء. أما الأنتيجينات غير الكاملة فأصغر بكثير إذ قد يقـارب وزنها الجزيئي وزن جزيء السكر أو حلقة البنزين. يعتبر وجود أنتيجينات المجموعات الدموية ABH خارج الغشاء السيتوبلازمي سبب قوتها وكيفية أدائها لدورها الحيوي بالمقـارنـة مع أنتيجينات نظام Rh-Hr التي تقع داخل الغشاء السيتوبلازمي. تعتمد الصفات المصلية لأي أنتيجين على عدد ومواقع مراكزه النشيطة في جدار الخلية الحمراء. تتجمع المراكز النشيطة الخاصة بانتيجينات ABH على هيئة رزم في حين توجد أنتيجينات Rh-Hr في جدار الخلايا الحمراء مبعثرة ومتباعدة.

الطبيعة الكيميائية للأنتيجين:- تعتمد الصفات الكيميائية والفيزيائية والحيوية لأي أنتيجين على طبيعته الكيميائية. تتكون نسبة كبيرة من الأنتيجينات الكاملة من البروتينات أو البـروتينـات النشـوية أو الشحوم البروتينية. تؤثر بعض النشويات النقية على النظام المناعي لجسم الإنسان أو الحيوان (كالفأر) علماً أن الشحوم لا تستطيع ذلك بالرغم من قيامهـا بدور الهـابتين أحيانـاً. تزيد قوة الأنتيجين المكـون من البـروتينات النشوية أو البروتينات الدهنية عن قوة الأنتيجين المكون من البروتين الصافي. تعتمد قوة أي أنتيجين على وجـود بعض المـركبات أو المجموعات البسيطة كالأحماض الأمينية والسكريات الأحادية والأحماض الدهنية ويشار لها بعوامل الأنتيجين (Antigen Determinants). وقد تبين ان الأنتيجينات I , Pi , Le^{b} ، Le^{a} , B, A, H تنشأ من مادة بدائية مشتركة تتكون من العوامل التالية وبنفس الترتيب:-

(D-galactose - N-acetylglucoseamine - D-galactose - D-glucoseceramide)

١- يتكون الأنتيجين H عندما يضاف إلى المادة البدائية جزيء L-fucose بمساعدة أنزيم Fucosyl Transferase.

٢- يتكون الأنتيجين A عندما يضاف جزيء N-acetylglucoseamine إلى الأنتيجين H بمساعدة أنزيم N-acetyl glucose amine Transferanse.

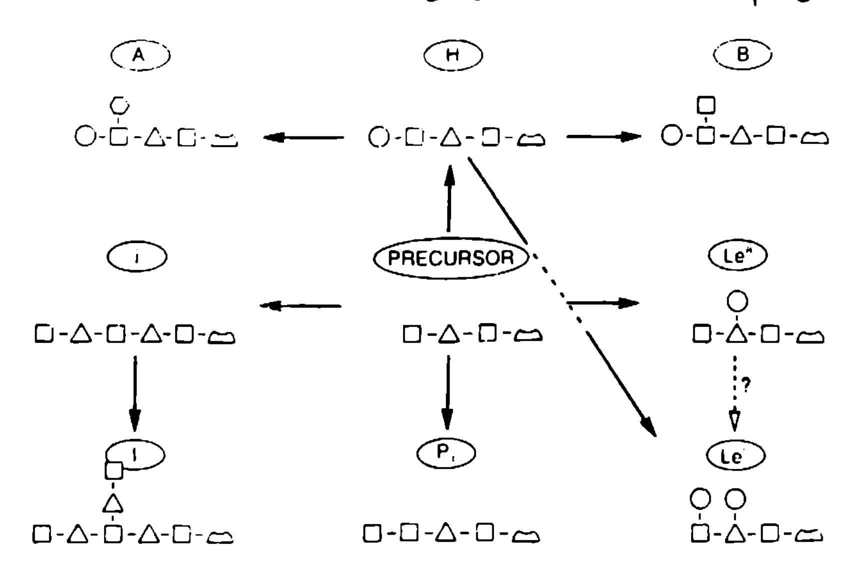
٣- يتكون الأنتيجين B عندما يضاف جزيء D-galactose إلى الأنتيجين H بمساعدة أنزيم D-galactosyl Transferase.

٤- يتكـون الأنتيجين Le^{a} عندما يضاف جزيء من L-fucose إلى جزيء السكر قبل

الأخير من المـادة البدائية في حين يتكون الأنتيجين Le^b عندما يضاف جزيئين من L-fucose إلى السكر النهائي وقبل النهائي من المادة البدائية بمساعدة أنزيم Fucosyl Transferase .

٥- يتكـون الأنتيجين Pi عنـدمـا يضاف جزيء من D-galactose إلى المادة البدائية بمساعدة أنزيم D-galactosyl Transferase .

٦- يتكون الأنتيجين i عندما يضاف جزيء N-acetyl - D -Galactose amine وجزيء D-galactose إلى جزيء السكر النهائي من المادة البدائية في حين يتكون الأنتيجين I عندما يضاف جزئين D-galactose وجزيء N-acetyl - D - glucose amine إلى جزيء السكـر النهـائي من المـادة البدائية مما يساهم في تفرع الأنتيجين. يوضح الشكل رقم (١) طبيعة العلاقة المميزة بين الأنتيجينات B, A, H، Le^a، Le^b، i,I,pi .



شكل رقم (١)

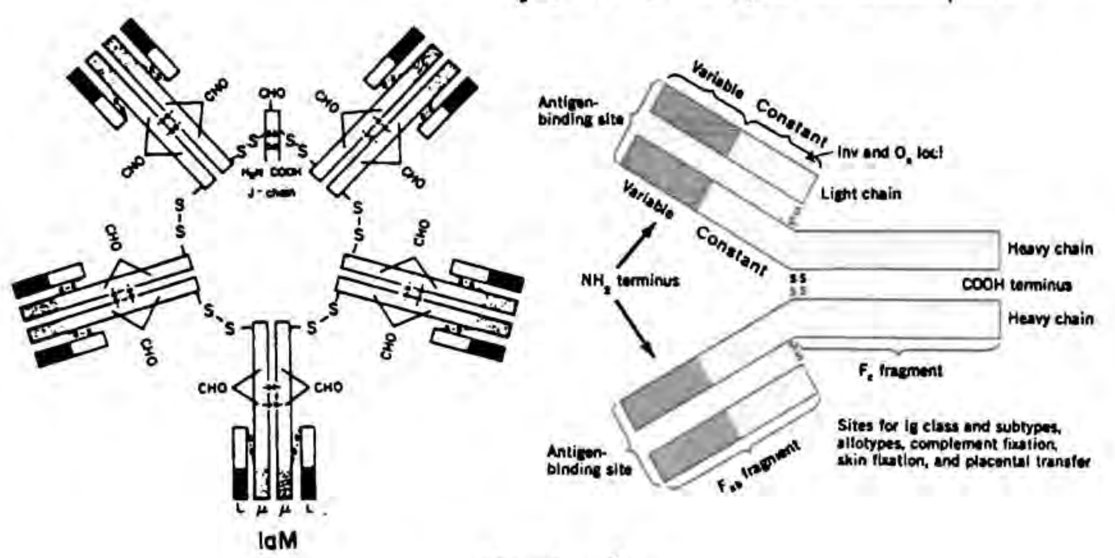
تختلف أنتيجينـات المجمـوعـات الـدمـوية عنـد تعرض الخلايا الحمراء لأنزيم الترانسفيريز المناسب. وبناء على ما تقدم يتضح سبب تحول المجموعة الدموية A إلـى B عند بعض من يعانون من تقرحات القناة الهضمية بسبب دخول أنزيم Deacetylase الذي تكونه بعض جراثيم الأمعاء إلى دمائهم.

تم التعرف على عوامل أنتيجينات نظام MNSs وتبين أنها تعتمد على أربعة سلاسل ببتايد ألفا ∝ وبيتا (B) وجاما (γ) وديلتا (δ) تسمى Sialoglycoproteins . تحمل سلسلة الببتايد ألفا التي تعرف بـ Glycophorin-A الصفات المصلية الخاصة بالأنتيجينات MN وتحمل سلسلة الببتايد ديلتا التي تعرف بـ Glycophorin-B الصفات المصلية الخاصة باللأنتيجينات Ss .

الأجسام المضادة لأنتيجينات المجموعات الدموية :-

يشار للأجسام المضادة والبروتينات المشابهة لها بجلوبولينات المناعة (Immunoglobulins) ويرمز لها بـ Igs . تنشأ الأجسام المضادة من جاما جلوبولين (γ - Globulin)

تقوم الخلايا الليمفاوية ـ ب (B- Lymphocyte) بتكوين الأجسام المضادة. تتألف جزيئات جميع الأجسام المضادة من أربعة سلاسل ببتايد تحمل السلسلتين الثقيلتين الصفات المميزة للأجسام المضادة وتتخذ السلسلتين الخفيفتين إما وضع (λ) Lambda أو وضع (K) Kappa ولا يظهر الوضعين معاً في أي جزيء من الأجسام المضادة بالرغم من تواجدهما في معظم الأجسام المضادة على جزيئات مختلفة.
تربط الروابط ثنائية الكبريت (-S-S-) كل سلسلة ببتايد خفيفة بسلسلة ببتايد ثقيلة كما تربط سلاسل الببتايد الثقيلة مع بعضها. يوضح الشكل رقم (٢) التركيب الجزيئي للجسم المضاد كما يظهر بالمجهر الاليكتروني.



شكل رقم (٢)

تساهم الروابط ثنائية الكبريت (-S-S-) في قوة التركيب الجزيئي للجسم المضاد ومرونته. يتميز أي جسم مضاد بعدد مراكزه النشيطة والفعالة القادرة على الارتباط بالأنتيجين. يوجد في سلاسل الببتايد الثقيلة أربعة مواقع مميزة وفي السلاسل الخفيفة ثلاثة مواقع. يتحد الأنتيجين مع الجسم المضاد بشكل أقوى من اتحاده مع أي من السلسلتين ومع السلسلة الثقيلة بشكل أقوى من اتحاده مع السلسلة الخفيفة. تتحد الأجسام المضادة مع أنتيجيناتها بتخصص مطلق بناء على ترتيب الأحماض الأمينية في الجزء القريب من النهاية الأمينية لسلاسلها. كما تصنف الأجسام المضادة بناء على ترتيب احماضها الأمينية في الجزء القريب من النهاية الكاربوكسيلية لسلاسلها. تم التعرف على خمسة أنواع أساسية من الأجسام المضادة في جسم الإنسان هي :ـ

IgM, IgG, IgA, IgE, IgD

تختلف الأجسام المضادة عن بعضها بعدد ومواقع وطبيعة الجزيئات النشوية في تركيبها. يستطيع جسم الإنسان أن يكون حوالي ١٠^٩ نوع من الأجسام المضادة تحت تأثير ثلاثة عوامل وراثية لكل منها. يشار للأجسام المضادة التي تقع عواملها في مكان ثابت من السلسلة الثقيلة بـ Isodntibodies وأهمها الخمسة الأساسية المبينة أعلاه والتي يمكن لكل منها أن يتحد بسلسلة ببتايد خفيفة (λ أو K) لتكوين ١٠ أنواع مختلفة من الأجسام المضادة توجد في مصل الإنسان الطبيعي وتختلف من حيوان لآخر. كما يشار للأجسام المضادة التي يختلف ترتيب الأحماض الأمينية الخاصة بالجزء الثابت من سلسلة الببتايد الثقيلة بـ Alloantibodies ولا توجد إلاّ في بعض العائلات أو الأجناس العرقية.

تتحلل الأجسام المضادة بأنزيم البابين (Papain) إلى نوعين من سلاسل الببتايد التي تتميز إحداها بقدرته على الأتحاد مع الأنتيجين لتكوين مركب معقد قابل للذوبان ولا يترسب ويسمّى Fragment antigen Binding= fab في حين تتميز الأخرى بعجزها عن الاتحاد مع الأنتيجين وترسب وتفصل لأنها غير قابلة للذوبان وتسمّى Fragment cry stallizable= fc .

الأجسام المضادة الأساسية :ـ تعتمد الصفات الحيوية لأي جسم مضاد على ترتيب الأحماض الأمينية في الجزء fc من سلسلة الببتايد. وفيما يلي أهم صفات الأجسام المضادة الأساسية :ـ

١ـ الأجسـام المضـادة IgG :ـ تشكـل IgGs حوالي ٨٠٪ من الأجسام المضادة الموجودة في المصل وتشمل أربعة أنواع تختلف عن بعضها بطبيعة الجزء غير القادر على الاتحاد مع الأنتيجين في سلاسل الببتايد الثقيلة. يقدر الوزن الجزيئي لِـ IgGs بحوالي ١٥٠٠٠٠ غم.ج وتتميز بأنهـا الـوحيدة القـادرة على الانتقال بحرية عبر المشيما مما يجعلها خط الدفاع الأول ضد الالتهابات الخاصة بالجنين في الأسابيع الأولى من عمره. يبدأ انتقال IgGs بشكل فعال من دم الأم إلى دم الجنين عبر المشيما في الأسبوع الثاني عشـر من عمـره ويستمر حتى الولادة بالرغم من اكتشاف كميات قليلة منها في مصل الجنين في اسبوعه الثامن.

يساوي تركيز IgGs الخاصة بالأم في دم الحبل السري للجنين عند ولادته تركيزها في دم أمه وقد يزيد عنها. تشكل IgGs معظم الأجسام المضادة الموجودة خارج الدورة الدموية بسبب قدرتها العالية على الانتشار بالمقارنة مع انتشار بقية جلوبولينات المناعة. لذا فإنها تتحمل العبيء الأكبر من عملية التخلص من الالتهابات الجرثومية ومضاعفاتها لأنها تعمل على تكتل الجراثيم تمهيداً لهضمها. تلتصق المركبات المعقدة الناتجة من تفاعل IgGs مع الجراثيم بالخلايا الألتهامية عن طريق fc .

٢ـ الأجسام المضادة IgA :ـ تشكل IgAs الأجسام المضادة الرئيسية في افرازات الجسم الخارجية وهي الأجسام المضادة الوحيدة التي تكونها الخلايا البلازمية الموجودة في الغـدد والأغشية المخاطية. يقدر عدد الخلايا المناعية المنتجة للأجسام المضادة IgAs بحوالي ٢٠ ضعف عدد الخلايا المناعية المنتجة للأجسام المضادة IgGs .تعمل الأجسام المضادةIgAsعلى منع التصاق الجراثيم بسطح الخلايا المخاطية المبطنة للقناة الهضمية ممـا يمنع انتشارها في انسجة الجسم المختلفة ويسمح بهضمها والتخلص منهـا. تظهـر IgAs ويكتمـل تركيزها في افرازات الجسم الخارجية كاللعاب والدموع والعصارات الهاضمة قبل ظهورها واكتمال تركيزها في المصل. تتميز الأجسام المضادة IgAs بقـدرتهـا المعتـدلـة على تكتيل الخـلايا الحمراء والجراثيم التي تحتوي على الأنتيجينات. يقدر الوزن الجزيئي للأجسام المضادة IgAs بـ ١٥٩٠٠٠ - ٤٤٧٠٠٠غم.ج.

٣ـ الأجسـام المضـادة IgMs :ـ يقـدر الوزن الجزيئي للأجسام المضادة IgMs بحـوالي ٩٠٠٠٠٠غم.ج ويتكون من خمسة جزيئات يقدر الوزن الجزيئي لكل منها

بحوالي ١٨٠٠٠٠غم.ج وتترابط مع بعضها عن طريق الروابط ثنائية الكبريت (-S-S-) الواقعة بين سلاسلها الثقيلة المتجاورة. لذا يحتوي كل جزيء IgM على حوالي عشرة مواقع نشيطة للأتحاد مع الأنتيجين. تستغل جميع المواقع النشيطة عند تفاعل IgMs مع الهابتينات (Haptins) في حين يستغل خمسة مواقع فقط عند تفاعلها مع الأنتيجينات الكاملة. لذا تتميز الأجسام المضادة IgMs بقدرتها العالية على تكتيل الخلايا والجراثيم التي تحتوي على الأنتيجينات. تتكون الأجسام المضادة IgMs قبل أية أجسام مضادة أخرى وتشكل حوالي ١٠٪ من الأجسام المضادة الموجودة في مصل الإنسان الطبيعي. يزيد تركيز IgMs في المصل بشكل حاد بعد الولادة بستة أيام وتستمر في الزيادة السريعة حتى يكتمل تركيزها المتوقع في مصل البالغين في نهاية العام الأول. تتوفر الأجسام المضادة IgM في مصل الإنسان والأرنب بشكل رئيسي وتختلف عن IgG بعدم قدرتها على الأنتقال من خلال المشيما بشكل فعال.

تعتبر الأجسام المضادة IgM و IgG مسؤولة عن معظم التفاعلات المصلية التي تعبر عن نفسها بالترسيب والتحلل والتكتل ومضاعفات نقل الدم وتثبيت المكمل. يكفي جزيء واحد من IgM لتثبيت المكمل C19 على سطح الخلية الحمراء في حين يلزم جزيئين من IgG للقيام بذلك. تعتمد قدرة الأجسام المضادة IgM و IgG على تثبيت المكمل C19 على درجة الحرارة إذ ينشط IgG المكمل C19 بشكل فعال بدرجات الحرارة ٢٤ و٣٧م، في حين يقوم IgM بذلك بدرجات الحرارة الباردة.

٤- **الأجسام المضادة IgE** :- يقدر الوزن الجزيئي لـ IgE بحوالي ١٨٧٠٠٠ - ٢٠٠٠٠٠غم.ج. يوجد IgE في المصل الطبيعي للأنسان والحيوانات القائمة بكميات قليلة نسبياً ويلعب دوراً هاماً في التفاعلات المصلية الخاصة بالحساسية (Allergy). يلتصق IgE عن طريق سلسلة الببتايد fc بسطح خلايا الماست والمحببات القاعدية مما يسبب تلاشي حبيباتها وإفراز بعض المركبات الأمينية -(هيستامين)التي تعتبر مسؤولة عن الأعراض الجلدية للحساسية. يعبر نشاط IgE عن ازدواجية نشاط الأجسام المضادة إذ تتحد سلسلة الببتايد fc بالخلية القاعدية في حين تتحد سلسلة الببتايد fab مع الأليرجين. يزيد تركيز IgE في مصل المصابين بالجراثيم والطفيليات المسببة للحساسية. يشبه IgE الأجسام المضادة IgD, IgA, IgG في أن جزيئاته أحادية وليست خماسية مثل IgM.

٥- **الأجسام المضادة IgD** :- يقدر الوزن الجزيئي لـ IgD بحوالي

١٧٧٠٠٠-١٨٥٠٠٠ غم.ج ويوجد بكميات قليلة جداً في مصل الإنسان ولا يظهر اطلاقاً في افرازات الجسم الخارجية. يعتقد أن الأجسام المضادة IgD مسؤولة عن الأجسام المضادة للأنسولين والبنسلين G وبروتينات الحليب وسموم الدفتيريا وأنتيجينات النواة والغدة الدرقية.

قد تكون الأجسام المضادة لأنتيجينات الخلايا الحمراء طبيعية أو مكتسبة تنشأ بسبب نقل الدم أو الحمل. تظهر الأجسام المضادة الطبيعية في الأجسام الخالية من أنتيجيناتها بصورة منتظمة كما هو الحال بالنسبة لـ Anti-A في مصل المصنفين بـ B و Anti-B في مصل المصنفين بـ A و Anti-A و Anti-B في مصل المصنفين بـ O كما قد تظهر بصورة غير منتظمة بنسب محدودة من الناس كما هو الحال بالنسبة للأجسام المضادة Anti- Le[a] - التي تظهر في مصل حوالي ٥-٢٠٪ من المصنفين بـ Le[(a-,b-)] بشكل ضعيف.

تعتمد قوة الأجسام المضادة المكتسبة على قوة وكمية أنتيجيناتها وعدد مرات دخولها للجسم والزمن الفاصل بين كل مرة وعلى قدرة الجسم على تكوينها. تسمى الأجسام المضادة المكتسبة بالأجسام المضادة الذاتية (autoantibadies) عندما لا تكون أنتيجيناتها غريبة عن الجسم المكون لها وإنما تنشأ بسبب تعرض انسجة الجسم وخلاياه لتأثير بعض العوامل الكيميائية. تعمل الأجسام المضادة الذاتية عند نشوئها على تحلل الخلايا الحمراء أو نقص الخلايا البيضاء أو الصفائح الدموية. يتم الكشف عن وجود الأجسام المضادة الذاتية بايجابية تجربة كومب المباشرة بغض النظر عن نتيجة تجربة كومب غير المباشرة. تصنف الأجسام المضادة الذاتية بناء على درجة حرارتها المثالية إلى باردة (Cold) تتكون عادة من IgMs ودافئة (Warm) التي تتكون عادة من IgGs . تشكل الأجسام المضادة الباردة حوالي ١٥٪ من الأجسام المضادة الذاتية المسببة لفقر الدم التحللي في حين تشكل الأجسام المضادة الدافئة حوالي ٨٥٪. تكتل معظم الأجسام المضادة الذاتية الباردة الخلايا الحمراء التي تحمل أنتيجيناتها بشكل قوي بدرجة ٤م وضعيف بدرجة ٢٤م في حين لا يظهر تأثيرها في درجة ٣٧م. تشمل الأجسام المضادة الذاتية الباردة Anti-H و Anti-I و Anti-i و Anti-P والأجسام المضادة لأنتيجينات الخلايا البيضاء والصفائح الدموية. تصنف الأجسام المضادة الذاتية الدافئة إلى أساسية غير معروفة الأسباب وثانوية ترافق بعض الحالات المرضية. تتراوح نسبة

الأجسام المضادة الذاتية الدافئة الأساسية إلى الثانوية بين ٧/٣ و ٣/٧ .

الليكتينات (Lectins)

تعرف الليكتينات بأنها بعض البروتينات المستخلصة من بذور بعض النباتات وأجسام بعض اللافقاريات مثل الهلاميات والكراب (Crabs) والفقاريات البدائية كبعض الأسماك وتعمل على تكتل الخلايا الحمراء الخاصة بإحدى المجموعات الدموية.

يستخلص الليكتين Anti-H من مسحوق بذور Ulex europaeus ويكتل الخلايا الحمراء الخاصة بالمجموعة الدموية O بشكل قوي بالمقارنة مع التكتل الضعيف الخاص بالخلايا الحمراء A2 والأضعف للخلايا الحمراء A و B . يفقد الليكتين Anti-H نشاطه عندما يتفاعل مع L-fucose أو N-acetyl - D-glucose amine . يستخدم الليكتين Anti-H في تمييز المفرزين عن غير المفرزين. يستخلص الليكتين Anti-A1 من بذور Dolishos biflorus ويكتل الخلايا الحمراء A1 ويفقد نشاطه عند تفاعله مع N-acetyl - D-glucose amine ويستخدم بشكل واسع لتمييز المصنفين بـ A1 من المصنفين بالمجموعة الدموية A . كما يمكن استخلاص الليكتينات Anti-A1 و Anti-A2 من بعض أنواع القواقع (Snails) مثل Helexaspersa علماً أن السائل المستخلص لا يكتل خلايا المصنفين بـ A2 . في حين يستخلص الليكتين Anti-N من Vicia graminea ويفقد نشاطه عند تفاعله مع D-Galactose . يستخدم الليكتين Anti-N في التعرف على الطبيعة الكيميائية للأنتيجينات M و N .

مظاهر التفاعلات المصلية

تعبر التفاعلات المصلية عن نفسها بأي من المظاهر التالية :-

التكتل (Agglutination) :- يظهر التكتل عندما تتفاعل أنتيجينات الخلايا الحرة كالجراثيم والخلايا الحمراء مع أجسامها المضادة حيث تتكتل الخلايا مع بعضها، لذا يسمى الأنتيجين الذي يشكل جزءاً من خلية جرثومية بأجلوتينوجين (Agglutinogen) في حين يسمى جسمه المضاد بأجلوتينين (Agglutenin) كما يسمى الأنتيجين الخاص بالخلايا الحمراء بهيموأجلوتينوجين (Hemoagglutinogen) ويسمى جسمه المضاد

بهيموأجلوتينين (Hemoagglutenin) .

٢ـ التحلل (Hemolysis) :ـ تتحلل الخـلايا الحمـراء وتفقد وجودها كتعبير عن التفاعل المصلي بين الأنتيجينات الموجودة في جدرانها وبين أجسامها المضادة وخاصة داخل الجسـم.

٣ـ الترسيب (Precipitation) :ـ يترسب الأنتيجين الذائب في محلوله عندما يتفاعل مع أجسامه المضادة ويظهر المركب المعقد الناتج من تفاعل الأنتيجين وجسمه المضاد على هيئة راسب.

٤ـ بتثبيت الأجسـام المضـادة (Antibody Fixation) :ـ تتحد الأجسام المضادة وتثبت في مواقعها عندما تكون الأنتيجينات جزءاً من الخلايا النسيجية وتحدد مواقعها في النسيج بالطرق الأشعاعية (flurosence) .

التكتل والتحلل المصلي للخلايا الحمراء

(RBCs Serological Hemolysis and Agglutination)

يعتبـر تكتـل الخـلايا الحمـراء وتحللها ومنع تكتلها محصلة للتفاعلات المصلية الخاصة بأنتيجينات الخلايا الحمراء والتي تواجه العاملين في بنك الدم. تؤثر العوامل التالية على التكتل المصلي للخلايا الحمراء عن طريق تأثيرها على شحنتها الكهربائية السالبة.

(١) قوة وعـدد ومواقع الأنتيجينات في جدار الخلايا الحمراء:ـ يتضح تأثير هذا العـامـل بمقـارنـة تكتـل الخـلايا الحمـراء بفعل الأجسام المضادة لأنتيجينات ABO وأنتيجينـاتRh-Hr تتوزع أنتيجينات ABO على حوالي مليون مركز في سطح الخلايا الحمراء مما يساهم في قوة تكتلها عند تفاعلها مع أجسامها المضادة بالمقارنة مع تكتلها الضعيف نسبياً بفعـل الأجسـام المضادة للأنتيجينات Rh-Hr التي تتوزع على حوالي ١٠٠٠٠ ـ ٣٠٠٠٠ مركز داخل جدران الخلايا الحمراء.

(٢) الأجسـام المضـادة:ـ تصنف الأجسام المضادة بناء على قدرتها على تكتيل الخلايا الحمراء إلى :ـ

أـ أجسام مضادة كاملة (Complete abs) :ـ وهي الأجسام المضادة التي تتفاعل مع أنتيجيناتها في جدران الخلايا الحمراء وتكتلها في المحلول الملحي دون

الحاجة لإجراءات خاصة باستثناء زيادة فترة الحضانة واستخدام قوة الطرد المركزي. تكون معظم الأجسام المضادة الكاملة في قمة نشاطها بدرجة ٤ م وتنشأ من IgMs ويقدر قطرها بحوالي ٣٥ مميك وهو أطول من المسافة التي تفصل الخلايا الحمراء عن بعضها في المحلول الملحي والتي تقدر بحوالي ٢٥ مميك.

ب ـ **الأجسام المضادة غير الكاملة (Incomplete abs)** :ـ وتعرف بأنها الأجسام المضادة التي تتفاعل مع أنتيجيناتها في جدران الخلايا الحمراء ولا تكتلها في المحلول الملحي. بالرغم من زيادة فترة الحضانة واستخدام قوة الطرد المركزي وذلك لأنها تنشأ من IgGs ويقل قطرها عن ٢٥ مميك. يمكن الكشف عن الأجسام المضادة غير الكاملة بأي من الطرق التالية:ـ

١ـ **اعتراضها لعمل الأجسام المضادة الكاملة**:ـ تتفاعل الأجسام المضادة غير الكاملة مع أنتيجيناتها وتشغل مواقعها في سطح الخلايا الحمراء مما يمنع تفاعلها مرة ثانية مع الأجسام المضادة الكاملة لذا تسمى بالأجسام المضادة الاعتراضية (Obstructive abs) .

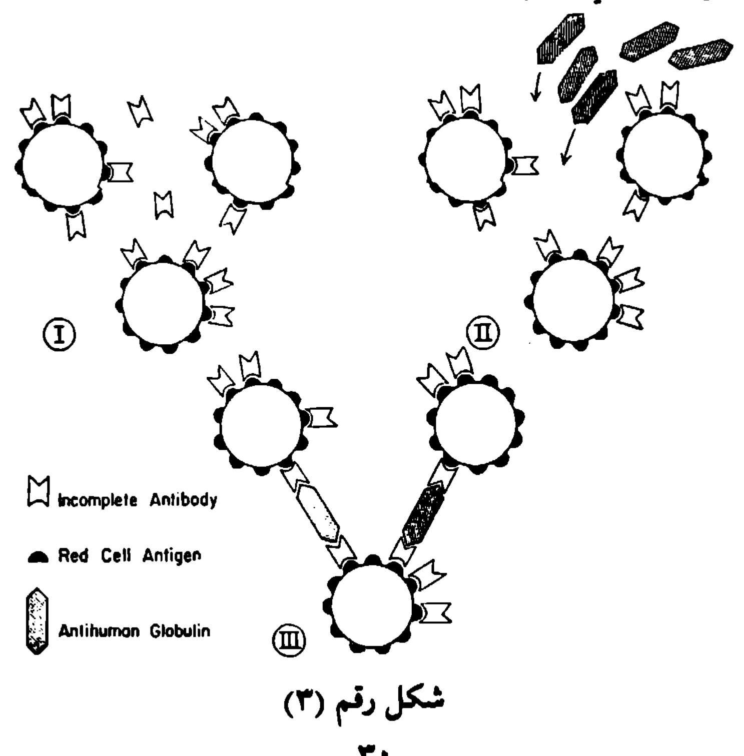
٢ـ **تقريب الخلايا الحمراء من بعضها وذلك باضعاف التنافر الكهربائي بينها بإحدى الوسائل التالية**:ـ

أـ استبدال المحلول الملحي بوسط أشد كثافة ويحتوي على بعض المركبات الكبيرة في وزنها الجزيئي مثل بلازما المريض أو الألبومين (Bovine) أو الجيلاتين التي تعمل كمكثف كهربائي يقلل قوة التنافر الكهربائي بين سطح الخلايا الحمراء وبالتالي تقريبها من بعضها مما يسمح للأجسام المضادة غير الكاملة بربطها مع بعضها.

ب ـ انقاص الشحنات الكهربائية السالبة الموجودة في سطح الخلايا الحمراء عن طريق فصل أيونات حامض سياليك (SialicA.) التي تحملها بواسطة بعض الأنزيمات مثل Trypsin و Papain و Bromelin و Ficin مما يقرب الخلايا الحمراء من بعضها ويسمح للأجسام المضادة غير الكاملة بربطها.

٣- استخدام المصل المضاد لجلوبولين الإنسان (Coombs Test) :- تستخدم تجربة كومب للكشف عن وجود الأجسام المضادة غير الكاملة وتعتمد على الحقائق التالية :-

- تنشأ الأجسام المضادة المتجانسة (Isoantibodies) من الجاما جلوبولين (γ -Globulin) .
- تكتل الأجسام المضادة لجلوبولين الإنسان (Antihuman Globulin) الخلايا الحمراء المكسوة به بسبب قيامه بدور الأجسام المضادة لبعض الأنتيجينات في جدارها.
- يحضر مصل كومب المضاد لجلوبولين الإنسان من دم بعض الحيوانات كالأرانب والماعز بعد حقنها بالجاما جلوبولين الخاص بالإنسان.
- يتم الكشف عن وجود الأجسام المضادة غير الكاملة التي تتحد مع أنتيجيناتها في سطح الخلايا الحمراء وتكسوها عن طريق قيامها بدور الأنتيجين لمصل كومب واتحادها معه مما يساعد على تكتل الخلايا الحمراء التي لم تكتلها الأجسام المضادة غير الكاملة. يوضح الشكل رقم (٣) كيف يستخدم مصل كومب في تكتل الخلايا الحمراء.



شكل رقم (٣)

تستخدم تجربة كومب المباشرة (Direct Coombs Test) للكشف عن وجود الأجسام المضادة غير الكاملة في سطح الخلايا الحمراء للمريض وذلك بإضافة مصل كومب المضاد للجلوبولين إلى محلول الخلايا الحمراء المخفف بالشكل المناسب لتشخيص فقر الدم التحللي في الأطفال حديثي الولادة (N.B.H.D) وفقر دم المناعة الذاتية (Autoimmune H.A) ولتقصي أسباب مضاعفات نقل الدم التحللية. تستخدم تجربة كومب غير المباشرة (Indirect Coombs Test) للكشف عن وجود الأجسام المضادة غير الكاملة في مصل المريض وذلك بحضنه لفترة زمنية مناسبة مع خلايا حمراء تحمل الأنتيجين مما يسمح لاكتمال التفاعل بين الأجسام المضادة غير الكاملة وأنتيجيناتها في سطح الخلايا الحمراء. يضاف مصل كومب المضاد للجلوبولين إلى محلول الخلايا الحمراء بعد غسلها بالمحلول الملحي للتخلص من بقايا مصل المريض. يتم اجراء تجربة كومب غير المباشرة في الحالات التالية :ـ

أـ الكشف عن وجود الأجسام المضادة غير الكاملة (Anti-D) في مصل المريض أو الأم المصنفة بـ Rh-ve وذلك بحضنه مع الخلايا الحمراء Rh+ve وإضافة مصل كومب المضاد للجلوبولين بعد غسلها بالمحلول الملحي.

ب ـ الكشف عن أنتيجينات بعض المجموعات الدموية التي لها أجسام مضادة غير كاملة مثل أنتيجينات (Rhu(Du الضعيف و Kell و Duffy .

جـ ـ الكشف عن وجود الأجسام المضادة الذاتية في فقر الدم التحللي الناتج عن المناعة الذاتية.

د ـ الكشف عن نقص أو انعدام الجلوبولين لأسباب وراثية (Agamaglobulinemia) وذلك بإيجاد التناقض في مصل كومب المضاد للجلوبولين عند إضافته لمصل المريض المخفف.

هـ ـ الكشف عن التفاعل بين أنتيجينات الخلايا البيضاء أو الصفائح الدموية أو أنسجة الجسم الأخرى وأجسامها المضادة.

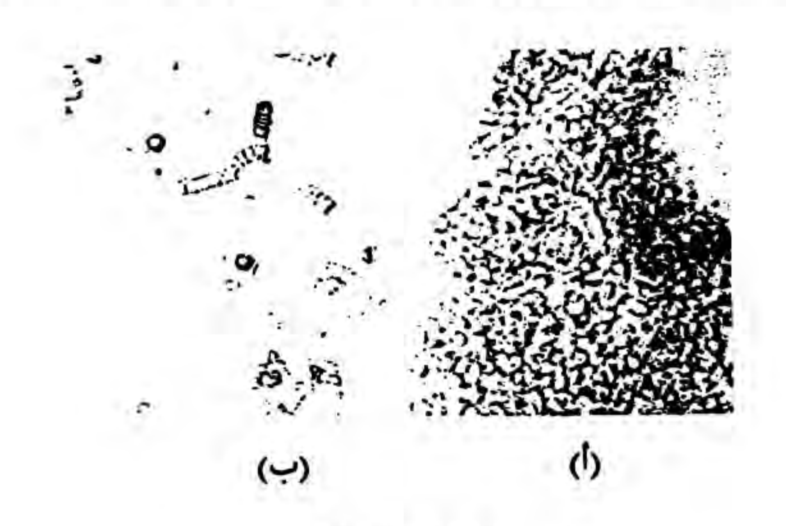
(٣) الوسط :ـ يساعد الوسط الحامضي الذي قوته الأيونية ضعيفة مثل محلول الجلوكوز الحامضي على ارتباط الأجسام المضادة بأنتيجينات الخلايا الحمراء. كما تساعد الأنزيمات والمركبات الكبيرة الوزن الجزيئي على التكتل بواسطة الأجسام المضادة غير الكاملة (IgGs) .

(٤) الظروف الفيزيائية :- تؤثر العوامل الفيزيائية كدرجة الحرارة ومدة الحضانة وقوة الطرد المركزي بشكل فعال في حدوث التكتل المصلي .

التكتل الكاذب للخلايا الحمراء

(RBCs Pseudo agglutinatin)

يختلف التكتـل الكـاذب (Raulex) عن التكتل الحقيقي بأنه مؤقت ويتحلل عن استبـدال المصـل بالمحلول الملحي وبـالتصـاق الخلايا الحمراء ببعضها عن طريق سطوحهـا المسـطحـة والمقعـرة. يتكـون الـروليكس بسبب زيادة تركيز الفيبـرينوجين والجلوبـولين والـديكسـتـران (Dextran) والبروتامين . . الخ . يستخدم التكتل الكاذب النـاتـج عن زيادة تركيز الـديكسـتـروز في التخلص من جليسـرول الخـلايا الحمـراء المجمـــدة. توفـر مركبـات Polybrene والبـروتـامين (Protamine) أعـداداً كبيرة من الشحنـات الكهـربـائية المـوجبة لتعادل الشحنات السالبة الموجودة في سطح الخلايا الحمراء وتساهم في اقترابها من بعض والتصاقها لتكوين الروليكس. يوضح الشكل رقم (٤) التكتل المصلي الحقيقي (أ) والتكتل غير الحقيقي (ب) للخلايا الحمراء.



(ب) (أ)

الشكل رقم (٤)

الفصل الثاني

ـ نظم المجموعات الدموية ABO ولويس وIi وPp

(انتيجيناتها وأجسامها المضادة وانتشارها)

نظم المجموعات الدموية

System of Blood Groups

تستخـدم التفاعلات المصلية في التعرف على الأنتيجينات الموجودة في جدران الخلايا الحمراء وبالتالي في التعرف على المجموعات الدموية للخلايا الحمراء.

يمكن إيجاز أهم مميزات المجموعات الدموية المعتمدة بما يلي :ـ

١ـ يتم التعـرف على المجموعة الدموية لأي إنسان بالطرق المصلية عن طريق تكتل الخلايا الحمراء أو تحللها.

٢ـ تتكـون الأنتيجينات الموجودة في سطح الخلايا الحمراء أثناء نمو الجنين ويكتمل معظمها عند الولادة أو في نهاية العام الأول بعد الولادة.

٣ـ تخضع أنتيجنات المجوعات الدموية لقوانين ميندل (Mendel) الوراثية حيث يحمل كل كروموسوم عدة عوامل وراثية (Genes) كل في موقعه (Locus) يقابله عامل آخر في الكرموسوم المجاور (Allele) . تكون العوامل الوراثية متجانسة (Homogene) إذا تشابهت على زوج الكرموسومات وغير متجانسة (Hetrogene) إذا اختلفت.

يحتوي جدار الخلية الحمراء على أكثر من ١١٠ أنتيجينات تشكل حوالي ١٥ نظاماً للمجمـوعات الدموية في الجنس القوقازي وهي كما يلي مرتبة من اليسار إلى اليمين حسب الأقدمية :ـ

ABO, MNS, Rh-Hr Lutheran, Kell, Lewis, Duffy, Kidd, Auberger, Xg, P, I, Dombrook, etc

كما تحتوي جدران الخلايا الحمراء الخاصة ببعض المجموعات العرقية عدداً من

الأنتيجينـات المميزة مثـل أنتيجين Viego الـذي ينتشـر بين الهنـود الحمر واليابانيين والصينيين والأنتيجين Sutter Js الـذي ينتشـر بين الـزنـوج. يعتبـر نظامي ABO و Rh-Hr أهم أنظمة المجموعات الدموية من الناحية العملية لأن أنتيجيناتها وأجسامها المضـادة قوية وواسعـة الانتشار في الجنس القوقازي بالمقارنة مع أنتيجينات الأنظمة الأخرى النادرة والضعيفة نسبياً علماً أن أجسامها المضادة غير موجودة أصلاً وأنما تتكون نتيجة عمليات نقل الدم المتكرر.

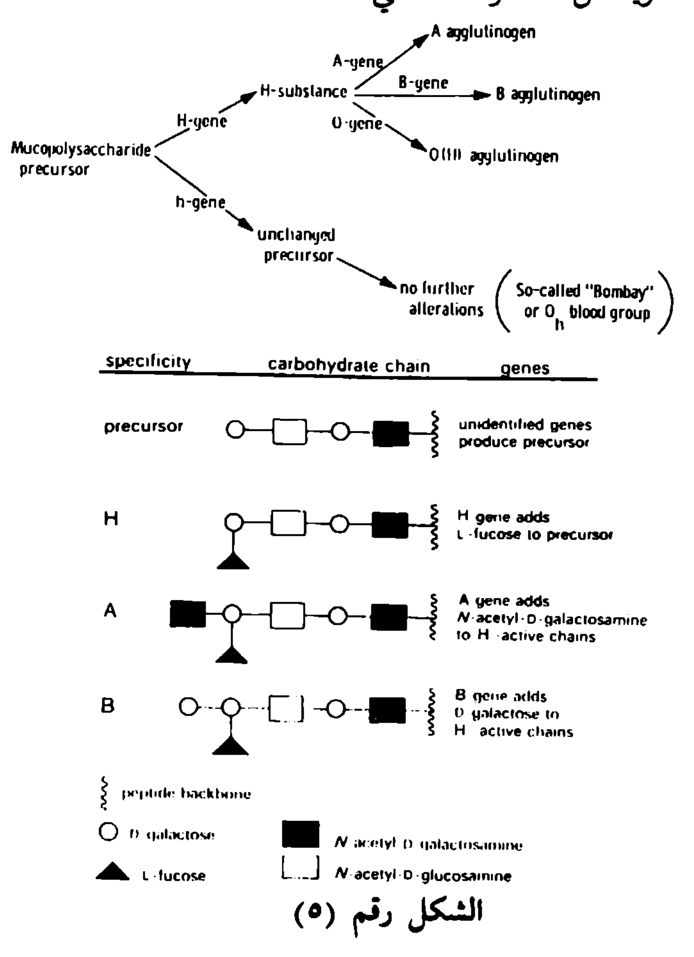
نظام ABO للمجموعات الدموية
(ABO Blood Groups System)

يحتوي نظام ABO على ثلاثة أنتيجينات (A و B و H) تنتشر في جميع خلايا وأنسجـة جسـم الإنسـان وفي أنسجـة وخـلايا عدد كبير من الحيوانات والكائنات الـدقيقة. تبدأ أنتيجينات ABH بالتكوين في بداية الشهر الثالث من عمر الجنين وتكتمل قوتها بعد عام واحد من الولادة.

تشكل البروتينات النشوية (Glycoproteins) المادة الأساسية لأنتيجينات ABH وأنتيجينـات نظام لويس (Lewis) حيث تقوم سلسلة الببتايد بدور العمود الفقاري للأنتيجين ويتصـل بها عدد من السكريات المخاطية (oligomucc polysacch orides) يختلف عددهـا باختـلاف طبيعة الأنتيجين. تشكل السكريات المخاطية حوالي ٨٥٪ من تركيب الأنتيجينات وتشمل D-glucosamine و D-Galactoseamie و D-fructose و D-Galactose. تتكون سلسلة الببتايد من ١٥ حامض أميني. تكون أحمـاض alanine و serine و proline و Threonine حوالي ٦٦٪ من تركيبهـا. تختلف أنتيجينات المجموعات الدموية عن بعضها باختلاف المجموعات الكيميائية في أطراف جزيئات السكر المخاطي التي تتغير في جميع الناس باستثناء قلة منهم تحت تأثير عوامل وراثية تقرر نوعية الأنتيجين. وبناء على ما تقدم يتحول السكر المخاطي في جميع الناس باستثناء قلة نادرة منهم تحت تأثير العامل الوراثي (H) إلى الأنتيجين H الموجود في جدار الخلية الحمراء لمعظم الناس باستثناء الندرة التي تخلو خلاياها الحمراء من الأنتيجين H ويصنف أفرادها بالمجموعة (Oh) أو مجموعة Bombay (O). يتحول جزء من الأنتيجين H الموجود في الخلايا الحمراء لبعض

الناس تحت تأثير العامل الوراثي A إلى الأنتيجين A . يصنف الأفراد الذيـن تحتوي خلاياهم الحمراء علـى الأنتيجين H والأنتيجين A بالمجموعة (A) . في حين يتحول جزء من الأنتيجين H في مجموعة ثانية من الناس تحت تأثير العامل الوراثي B إلى الأنتيجين B . يصنف الأفـراد الذين تحتوي خلاياهم الحمراء على الأنتيجين H والأنتيجين B بالمجموعة (B) . كما يتحول جزء كبير من الأنتيجين H في مجموعة ثالثة من الناس تحت تأثير العوامل الوراثية A و B إلى الأنتيجينات A و B.

يصنف الأفـراد الذين تحتوي خلاياهم الحمراء على الأنتيجينات A و B و H بالمجمـوعـة AB . في حين يصنف ما تبقى من النـاس الذين تحتوي خلاياهم الحمراء على الأنتيجين H فقط لعدم وجود العوامل الوراثية A و B بالمجموعة (O) . يوضــح الشكـل رقم (٥) كيفية تأثير العـوامـل الـوراثية في نشـوء أنتيجينـات المجموعات الدموية من السكر المخاطي.



الشكل رقم (٥)

نظراً لوجـود الأنتيجين H في جدران الخـلايا الحمراء لجميع الناس باستثناء الندرة المصنفة بالمجموعة Oh فإن الخلايا الحمراء لمعظم الناس تتكتل بالأجسام المضادة للأنتيجين H(H-Ab) بقوة تنازلية كما يلي :ـ

o> A2 > A2B > B > A1 > A1B

تشير الدراسات المصلية إلى أن الأنتيجينات A و B غير متجانسة لأن كل منها يحتوي على عدد من المركبات الكيميائية المتشابهة يعمل كل واحد منها كأنتيجين مستقل عن غيره.

يتكـون الأنتيجين A مما لا يقل عن خمسة أنتيجينات متشابهة يمكن ترتيبها حسب قوتها التنازلية كما يلي :ـ

A1 > A2 > A3 > Ao > Ax > Am

يوجـد الأنتيجين A1 في حوالي ٨٠٪ من المصنفين بالمجموعات الدموية A و AB . كما يوجد الأنتيجين A2 في حوالي ٢٠٪ من المصنفين بـ A و AB . كما يتكون الأنتيجين B من عدد من الأنتيجينات التي يشار لها بـ B_3 و Bx و Bb و Bm و Br وتتميز بندرتها وعدم أهميتها بالمقارنة مع الأنتيجين B1 الذي يوجد في الخلايا الحمـراء لمعظم المصنفين بـ B . وللمجموعة الدموية (A2) أهمية خاصة بسبب ظهور الأجسام المضادة للأنتيجين A1 (A1. ab) في مصل بعض أفرادها.

يمكن التمييز مخبرياً بين الأنتيجينات A1 و A2 باستخدام المصل المضاد لـ (A) والذي يتألف من مزيج من الأجسام المضادة Anti-A1 و Anti-A2 بعد تعديله عن طريق تفاعله مع أي من أنتيجينات A1 أو A2 السائلة.

يصنف دم الجنس القوقازي بناء على توفر العوامل الوراثية للأنتيجينات A و B إلى ستة مجموعات وراثية (Genotypes) كما يلي :ـ

AA, AB, AO, BB, OO, BO

علماً أن الدراسات المصلية تؤكد وجود أربعة مجموعات دموية (Phenotypes) كما يلي :ـ

A, B, AB, O

لا يتطابق عدد المجموعات الدموية المصلية مع عدد المجموعات الوراثية لعدم

قدرة التفاعلات المصلية على التمييز بين المجموعات الوراثية AA و AO أو بين BB و BO لذا فإنها تصنف بالمجموعات الدموية A و B على التوالي.

يوضح الجدول رقم (١) المجموعات الدموية الوراثية الخاصة بنظام ABO ونسبة تواجدها في الجنس القوقازي.

ABO PHENOTYPES
& GENOTYPES IN U.S.
CAUCASOID POPULATION

BLOOD GROUP PHENOTYPE	BLOOD GROUP GENOTYPE	INCIDENCE (PER CENT)		
O	OO			45
A_1	A_1O	25	32	41
	A_1A_1	4		
	A_1A_2	3		
A_2	A_2O	8.5	9	
	A_2A_2	0.5		
B	BO	9.3		10
	BB	0.7		
A_1B	A_1B	2.8		4
A_2B	A_2B	1.2		

جدول رقم (١)

تنشأ الأجسام المضادة لأنتيجينات نظام ABO في مصل الجنين الخالي من الأنتيجين في مراحل مبكرة من تطوره بسبب تعرضه بشكل دائم لإمكانية دخول جميع أنتيجينات ABH إلى دمه في مختلف مراحل نموه لأنها واسعة الانتشار في الطبيعة وتكتمل قوتها بعد مرور عام على الولادة.نظراً لاستحالة تواجد الأجسام المضادة للأنتيجينات الموجودة في الجسم فإن مصل المجوعة الدموية A يحتوي على الأجسام المضادة للأنتيجين B (B-ab) . وكذلك فإن مصل المجموعة الدموية B يحتوي على الأجسام المضادة للأنتيجين A (A-ab) ويحتوي مصل المجموعة الدموية O على الأجسام المضادة للأنتيجينات A و A-ab+B-ab)B) في حين يخلو مصل المجموعة الدموية AB من الأجسام المضادة لكل من الأنتيجينات A و A-ab + B-ab)B) . أما

مصل المجموعة الدموية Oh فيحتوي على الأجسام المضادة للأنتيجينات A و B و (A-ab + B-ab + H-ab)H . تعتبر الأجسام المضادة لأنتيجينات A,B,H كاملة وتنشأ من جلوبولين المناعة IgM ومعظمها باردة .

يقل تركيز الأجسام المضادة (Anti-B) في مصل المجموعة الدموية O عند إضافته إلى الخلايا الحمراء A . كما يقل تركيز الأجسام المضادة (Anti-A) في مصل المجموعة الدموية O عند إضافته إلى الخلايا الحمراء B . علماً أن هذه الظاهرة غير موجودة عند إضافة مزيج من مصل الأجسام المضادة Anti-A + Anti-B إلى أي من الخلايا الحمراء A أو B . كما لوحظ زيادة تركيز الأجسام المضادة Anti-B في مصل المصنفين بـ O عند حقنهم بالخلايا الحمراء A وكذلك زيادة تركيز الأجسام المضادة Anti-A في مصل المصنفين بـ O عند حقنهم بالخلايا الحمراء B . وقد أوضح وينر (Winner) أن مصل المصنفين بالمجموعة الدموية O يحتوي على أجسام مضادة غير الأجسام المضادة للأنتيجينات A و (A-ab + B-ab)B والتي تتفاعل مع الأنتيجين C . تظهر الأجسام المضادة Anti-C في مصل المصنفين بـ O بمستويات منخفضة ويزيد تركيزها بشكل حاد بعد دخول أي من الأنتيجينات A أو B . يوجد الأنتيجين C في جميع الخلايا الحمراء التي تحمل الأنتيجينات A و B مجتمعة أو منفصلة. ولتجنب إضافة مجموعة دموية جديدة لنظام ABO أشار وينر (Winner) للأجسام المضادة Anti-C بـ Anti-AB . وتعتبر مسؤولة عن فقر الدم التحللي عند الأطفال حديثي الولادة وعند عدم التوافق في نظام ABO بين دم الأم وجنينها.

يمكن الحصول على كميات نقية من أنتيجينات ABH من مصادر مختلفة مثل أول براز للطفل بعد الولادة (Meconium) . كما يحضر الأنتيجين (A) نقياً لأغراض تجارية من الغشاء المخاطي المبطن لمعدة الخنزير والأنتيجين (B) من الغشاء المخاطي المبطن لمعدة الحصان. تستخدم الأنتيجينات A و B عملياً في المختبرات الطبية كما يلي :-

أ - تحقن في الأرانب لرفع قوة الأجسام المضادة Anti-A و Anti-B المستخدمة في بنوك الدم .

ب - لإبطال مفعول الأجسام المضادة Anti-A و Anti-B مخبرياً بشكل كلي أو جزئي بناء على الحاجة .

تظهر أنتيجينات المجموعات الدموية A و B و H في لعاب وافرازات القناة الهضمية

لحـوالي ٨٠٪ من الجنس القـوقـازي. يشـار لهـذه المجمـوعة من الناس بالمفرزين (Secretors) وتوجد أنتيجينات المجموعات الدموية في نظام ABO في أنسجتهم على هيئـة مركبـات دهنية وأخرى غير دهنية تذوب الأخيرة في السوائل المائية للجسم مثل اللعـاب وافرازات القناة الهضمية. كما يشار لبقية الناس الذين يخلو لعابهم وافرازات قنـاتهم الهضمية من أنتيجينـات مجمـوعـاتهم الدموية في نظام ABO بغير المفرزين (Nonsecretors) وتوجد أنتيجينات مجموعاتهم الدموية في نظام ABO في أنسجتهم على هيئة مركبات دهنية فقط لا تذوب في سوائل الجسم المائية. يعتبر العامل الوراثي السائد Se مسؤولاً عن صفة الأفراز والعامل الوراثي المتنحي (Se) مسؤولاً عن عدم الأفراز.

تتميز المجموعة الدموية Oh بخلو خلاياها الحمراء من الأنتيجينات A و B و H بالرغم من وجود عواملها الوراثية لذا لا تتكتل خلاياها الحمراء بالأجسام المضادة Anti-A و Anti-H و Anti-B .

كما يمكن الحصول على محلول الأجسام المضادة Anti-A باستخلاصه من بذور نبات Dolichosbiflorus وعلى محلول الأجسام المضادة Anti-A1 و Anti-A2 من بعض القواقـع الحلزونية (Snails) مثل Helxaspera علماً أن المحلول المستخلص منها لا يؤثر على الخلايا الحمراء A3 . في حين يمكن الحصول على محلول الأجسام المضادة Anti-H باستخلاصه من بذور Ulex europaeus .

ملاحظات هامة على نظام ABO

١ـ تتشابه الطبيعة الكيميائية لأنتيجينات نظام لويس ونظام Ii ونظام P ونظام ABO .

٢ـ يعتبر التوافق بناء على نظام ABO ضرورياً لنجاح زراعة الأعضاء والأنسجة إذ تشير بعض الـدراسـات إلى نسبة فشل زراعة الكلى تقارب ٤٦٪ عند عدم التوافق وتقل لحوالي ٧٪ عند التوافق.

٣ـ يوجد الكثير من الدلائل على أن عدم التوافق بين الأم والجنين وبين الزوج والزوجة مسؤول عن عدم الإنجـاب بنسب عالية عندما لا يوجد أي عائق عضوي ملموس. يمكن تعليل هذه الظاهرة لعدم التوافق بين الحيوان المنوي والبويضة وبالتالي فشل عملية الاخصـاب أو موت الجنين نتيجة فقر دم تحللي حاد. قد لا يتم الاخصاب

بسبب تلف الحيوانات المنوية عند تعرضها للأجسام المضادة التي تتواجد في افرازات عنق الرحم والتي تكون IgG . تتراكم أنتيجينات ABH على الحيوانات المنوية من السائل المنوي الخاص بالمفرزين. أما وفاة الجنين فيكون بسبب انتقال الأجسام المضادة IgG إلى الجنين عن طريق المشيما.

٤- يتعرض المفرزون المصنفون بـ A أكثر من غيرهم للأصابة بحصى المرارة وتشمع الكبد وأورام الغدد اللعابية والمعدة والبنكرياس والمبايض والذبحة الصدرية ومرض السكري. كما تنتشر الإصابة بقرحة الاثنا عشر بين غير المفرزين من المجموعة الدموية O .

٥- تكتسب الخلايا الحمراء لبعض المصنفين بـ A أو O الذين يعانون من الأمراض الحادة للقناة الهضمية كالسرطان والتقرحات القدرة على التفاعل مع الأجسام المضاة Anti-B الموجودة في مصلهم وذلك بسبب اختراق انزيم **Deacetylase** الذي تنتجه بعض جراثيم الأمعاء لجدار القناة الهضمية ويعمل على فصل مجموعة الأسيتات من الأنتيجين A الذي يتحول إلى الأنتيجين B .

نظام لويس للمجموعات الدموية
(Lewis Blood Groups System)

تشبه أنتيجينات نظام لويس أنتيجينات نظام ABO في طبيعتها الكيميائية العامة إذ تنشأ كأنتيجينات ABH من البروتينات المخاطية (Mucoproteins) وتختلف عن بعضها بطبيعة المجموعة الكيميائية في نهاية جزيئات السكر المخاطي الخاص بالأنتيجين. يختلف نظام Lewis عن بقية نظم المجموعات الدموية بأن أنتيجيناته ليست أصيلة في جدران الخلايا الحمراء. يتراكم حوالي ٨٠٪ من أنتيجينات لويس على جدران الخلايا الحمراء في نهاية العام الأول ويكتمل تراكمها في نهاية العام الثاني بعد الولادة. لذا يعتبر نظام لويس خاص بالأنسجة أكثر من الخلايا الحمراء.

يحتوي نظام لويس على أنتيجنين هما Le^a و Le^b

ويشمل ثلاثة مجموعات دموية هي :-

(1) $Le^{(a+,b-)}$

(2) $Le^{(a-,b+)}$

(3) $Le^{(a-,b-)}$

عنـد الكشف عن وجـود أنتيجينـات لويس وأنتيجينات نظام ABO في لعاب الجنس القوقازي أمكن التعرف على أربعة مجموعات لعابية كما يلي:ـ

١ـ يحتوي لعاب حوالي ٧٤٪ من أفراد الجنس القوقازي على أنتيجينات Le^a و Le^b

و ABH علماً أن نسبة الأنتيجين Le^b أكبر بكثير من نسبة الأنتيجين Le^a ويرمز لهذه

المجموعة بـ $Le^{(a-,b+)}$.

٢ـ يحتـوي لعـاب حوالي ٢٠٪ من أفراد الجنـس القوقازي على الأنتيجين Le^a فقط ويرمز لهذه المجموعة بـ $Le^{(a+,b-)}$.

٣ـ كما يحتوي لعاب مجموعة من أفراد الجنس القوقازي على الأنتيجين الخاص بنظام ABO فقط ويرمز لهذه المجموعة بـ $Le^{(a-,b-)}$.

٤ـ يخلو لعاب بقية أفراد الجنس القوقازي من جميع أنتيجينات لويس وأنتيجينات نظام ABO ويرمز لهذه المجموعة بـ $Le^{(a-,b-)}$.

يلاحظ أن لعاب المجموعات ٣ و ٤ خالٍ من أنتيجينات لويس وتشكل حوالي ٦٪ من أفـراد الجنس القوقازي. كما يلاحظ عدم تواجد أنتيجين Le^a وأنتجينات مجمـوعـات ABO في لعاب أي من أفراد الجنس القوقازي وبالتالي عدم تواجد الأنتيجين Le^a وخاصية الأفراز في أي إنسان بسبب التنافس بين العامل الوراثي

للأنتيجين Le^a والعامل الوراثي للافراز (Se) على السكريات المخاطية المساهمة في

تكوين البروتينات النشوية التي تمثل المادة الأساسية للأنتيجينات.

يوضح الجدول رقم (٢) مختلف مجموعات نظام لويس الدموية ومدى انتشارها بين أفراد الجنس القوقازي وطبيعتها الأفرازية:ـ

PHENOTYPES OF THE LEWIS SYSTEM

Phenotypes	Reactions with Anti- Le^a	Le^b	Frequency (%) of U.S. Adults Whites	Blacks
Le(a+b−)	+	−	22	23
Le(a−b+)	−	+	72	55
Le(a−b−)	−	−	6	22
Le(a+b+)*	+	+		

*Encountered occasionally in infants or young children who subsequently become Le(a−b+).

جدول رقم (٢)

يعتبـر العـامـل الـوراثي لويس مسئولاً عن نشوء الأنتيجين Le^a في حين يتكون

الأنتيجين Le^b بسبب اتحـاد عاملين أو ثلاثـة من عوامـل لويس والأفراز (ABH)

الوراثية. يتضح مما سبق بأن جميع أفراد المجموعة الدموية $Le^{(a-,b+)}$ مفرزين وجميع

أفـراد المجمـوعة الدموية $Le^{(a+,b-)}$ غير مفرزين في حين أن جزء من أفراد المجموعة

الـدموية $Le^{(a-,b-)}$ مفرزين والجزء الآخر غير مفرزين. يوضح الجدول رقم (٣) علاقة

خاصية الأفراز بالمجموعات الدموية لنظام لويس.

توجـد الأجسام المضادة لمعظم أنتيجينات لويس بشكل طبيعي وضعيف في مصل المجموعات الخالية منها. تتصرف الأجسام المضادة للأنتيجين Le^a كأجسام مضادة كاملة وتكتل الخلايا الحمراء التي تحمله في المحلول الملحي بدرجة ١٥م أكثر من ٣٧م.

نسـاعـد الأنـزيمـات على تكتل الخلايا الحمراء التي تحمل الأنتيجين Le^a بأجسـامه المضادة. يندر وجود أجسام مضادة للأنتيجين Le^b بدون وجود الأجسام المضادة للأنتيجين Le^a. لذا تسبب الأجسام المضادة لأنتيجينات نظام لويس بعض المتاعب عند اجراء عملية الموافقة.

ABO SECRETORS AND LEWIS PHENOTYPES

Secretion Status	Secretor		Non-Secretor	
Frequency	80%		20%	
ABH substance	Present		Absent	
Controlling gene	Se		sese	
Lewis gene	Le	lele	Le	lele
Lewis substance	Le^b + Le^a	None	Le^a	None
Lewis phenotype Le	a − b +	a − b −	a + b −	a − b −

جدول رقم (٣)

نظام Ii للمجموعات الدموية

(Ii Blood Groups System)

ينتشر الأنتيجين I في الخلايا الحمراء لمعظم البالغين في حين تحمل الخلايا الحمراء لجميع الأجنة بعد اكتمال نموهم ولجميع الأطفال عند ولادتهم الأنتيجين i الذي يتحول بشكل تدريجي إلى الأنتيجين I . يستكمل الأنتيجين I قوته عندما يكاد الأنتيجين i أن يختفي بعد الولادة بـ ١٨ شهر. لا توجد أية علاقة بين العوامل الوراثية لنظام Ii ونظام ABO ونظام لويس إذ تختلف مواقع عواملها الوراثية على الكرموسومات. تم اكتشاف وجود الأنتيجين I في اللعاب والحليب والسائل الرهلي (Amniotic fluid) والبول ولعاب الرضع المصنفين بـ I ولعاب وحليب البالغين المصنفين بـ i ويحتوي مصلهم على أجسام مضادة قوية للأنتيجين I .

يوضح الجدول رقم (٤) مدى انتشار أنتيجينات Ii في مختلف مراحل النمو.

I-i ANTIGENS

Strength of Antigen		Found in Erythrocytes	Incidence
I	i		
↑	i_1	White	Rare
	i_2	Blacks	Rare
	i_{cord}	Cord	All
	I_{int}	Adult (Ii)	Few
↓	I	Adult	Almost all

جدول رقم (٤)

تتميز الأجسام المضادة Anti-I بأنها باردة وقوية وقد تكون طبيعية أو ذاتية أو مكتسبة وتتكون من جلوبولين المناعة IgM وتزيد قدرتها على تكتيل الخلايا الحمراء

بوجـود الأنزيمات. كما يزيد تركيز الأجسام المضادة Anti-I عند الإصابة بالتهاب رئوي ناتج عن (Mycoplasma) . أما الأجسـام المضادة Anti-i فتتميز بأنها باردة وقوية وقد تكون محللة وتتكون من جلوبولين المناعة IgM وفي بعض الحالات من IgG ويزيد تركيزها في حالة الحمى الغدّية (Infectious Monoculosis) . كما يزيد تركيز الأجسام المضادة Anti-i في فقر الدم التحللي الناتج عن المناعة الذاتية وفي بعض الالتهـابـات الجـرثومية. تشير الدراسات المصلية إلى ظهور أجسام مضادة لأنتيجينات معقدة تشمل I أو i مثل IA و IB و IH و iH و ILeª أثناء نشوء أنتيجينات ABH وأنتيجينات لويس. وبناء على ما تقدم يمكن الاستنتاج بأن العامل الوراثي الخاص بالأنتيجين I يساهم في تطوير وبناء أنتيجينات نظام ABH ونظام لويس. لذا يمكن اعتبار الأنتيجين I بأنه الطور البدائي لأنتيجينات ABH . تحتوي المجموعة Oh على الأنتيجين I الذي يزيد تركيزه عند تحلل أنتيجينات ABH .

نظام P للمجموعات الدموية
(P Blood Groups System)

تشبه أنتيجينات نظام P للمجموعات الدموية أنتيجينات نظام ABH في الطبيعة الكيميائية إذ يحتـوي كل منهم على سكـر مخـاطي يتكـون من Galactose و N-acetyl Galactose amine و N-acetyl Glucose amine . . . يوضح الجدول رقم (٥) طبيعة التشابه بين نظام ABO ونظام P للمجموعات الدموية حيث يحتوي كل منهـا على ثلاثـة أنتيجينـات هي P1 و P2 و pk بالنسبـة لنـظام P . وتقابل أنتيجينات A1 و A2 و H في نظام ABO .

SIMILARITY BETWEEN THE ABO AND THE P SYSTEMS

ABO		P	
Phenotype of Erythrocyte	*Antibodies in Serum*	*Phenotype of Erythrocyte* %	*Antibodies in Serum*
O_h	Anti-H,-A,-B	p }..Rare	Anti-PP$_1$P^k(Tj^a)
O	Anti-A(A + A$_1$): B	P^k	Anti-P(P + P$_1$)
A_2	Anti-A_1	P$_2$ ...25	Anti-P$_1$
A_1	None for A antigen	P$_1$ ...75	None

جدول رقم (٥)

يشير الجدول السابق إلى علاقة المجموعات الدموية p و pk و P2 و P1 في

نظام P مع المجموعات الدموية Oh و O و A1 في نظام ABO على التوالي. إذ أن كل من المجموعات p و Oh نادرة الوجود وتعتبر أنتيجيناتها اطواراً بدائية لبقية الأنتيجينات الخاصة بالمجموعات الأخرى الخاصة بكل نظام. يحتوي مصل كل من المجموعات p و Oh على أجسام مضادة لأنتيجينات المجموعات الأخرى الخاصة بنظامها. يحتوي مصل pk على الأجسام المضادة للأنتيجين P تماماً كما يحتوي مصل O على الأجسام المضادة للأنتيجين A2 ويحتوي مصل P2 على الأجسام المضادة للأنتيجين P1 كما يحتوي مصل A2 على الأجسام المضادة للأنتيجين A1 . ينتشر الأنتيجين P1 في حوالي ٧٥٪ من الجنس القوقازي وحوالي ٩٥٪ من الزنوج. في حين ينتشر P2 في حوالي ٢٥٪ من الجنس القوقازي وحوالي ٥٪ من الزنوج. يندر وجود الأنتيجين p و pk في الخلايا الحمراء لأفراد الجنس القوقازي. من المعلوم أن أنتيجينات نظام p كان يرمز لها بـ P و p و Tja بدل رموزها المستخدمة في الوقت الحاضر على نطاق واسع وهي على التوالي P1 و P2 و pk .

تظهر الأجسام المضادة Anti-P1 بشكل طبيعي في مصل المصنفين بـ P2 وهي أجسام مضادة كاملة وتنشأ من جلوبولين المناعة IgM . تتفاعل الأجسام المضادة Anti-P1 مع أنتيجيناتها بدرجات حرارة مختلفة ويزيد نشاطها بدرجات الحرارة الباردة وقد تكون محللة في بعض الأحيان. في حين يزيد تركيز الأجسام المضادة Anti-P1 في مصل المصابين بطفيل Ecchinococus الذي يحتوي على كميات كبيرة من الأنتيجين. يندر نشوء مضاعفات نقل الدم بسبب الأجسام المضادة لأنتيجينات نظام P بالرغم من أنها قد تكون مسؤولة عن بعض الصعوبات في عملية الموافقة.

الفصل الثالث

ـ نظم المجموعات الدموية Kidd, Kell, MNS, Rh-Hr
. Xg, Lutheran, Duffy,
(انتيجيناتها وأجسامها المضادة وانتشارها)

نظام Rh-Hr للمجموعات الدموية
(Rh-Hr Blood Groups System)

يعتبـــر نظام Rh-Hr من اعقـــد نظم المجمـوعـات الـدمـوية من حيث عدد الأنتيجينات ورموزها وعلاقتها ببعض. تشير الدراسات المصلية إلى وجود حوالي ٣٩ أنتيجين في نظام Rh-Hr خمسة منها فقط أساسية. يوضح الجدول رقم (٦) أهم أنتيجينات نظام Rh-Hr مرتبة حسب أهميتها وسعة انتشارها.

	S.No.	Winner	Fisher & Race	Rosenfield	%
Main Antigens	1 -	Rho	D	Rh1	85%
	2 -	rh′	C	Rh2	70%
	3 -	rh″	E	Rh3	30%
	4 -	hr′	c	Rh4	80%
	5 -	hr″	e	Rh5	97%
Secondary Antigens	6 -	hr	f or ce	Rh6	64%
	7 -	rhi	Ce	Rh7	69%
	8 -	rh^{W1}	C^{W}	Rh8	02%
	9 -	rh^{X}	C^{X}	Rh9	0.0[illegible]%
	10 -	hr^{V}	V or ce^{5}	Rh10	<1%
	11 -	rh^{W2}	E^{W}	Rh11	V. rare
	12 -	rh^{G}	G	Rh12	87%

جدول رقم (٦)

ومن المعلوم أن الـرمـوز الخاصة بـ Winner و Fisher & Race أكثر شيوعاً واستخداماً من رموز Rosenfield . تتوزع العوامل الوراثية للأنتيجينات الأساسية في نظام Rh-Hr على ثمانية وحدات ثلاثية يشار لها بـ Halotypes تعمل كل وحدة على نشوء ثمانية أنتيجينات ثانوية معقدة.لا توجد العوامل الوراثية للأنتيجينات C و c على نفس الكروموسوم وكذلك لا توجد العوامل الوراثية للأنتيجينات E و e على نفس

الكروموسوم. توجد مواقع العوامل الوراثية الخاصة بـ C و c قريبة من مواقع العوامل الوراثية الخاصة بـ E و e وبعيدة نسبياً عن مواقع العوامل الوراثية الخاصة بـ D . لذا فمن المنطقي أن يعبر عن مجموعات العوامل الوراثية بـ DCE بدل CDE الشائع الاستخدام. كما يستخدم الرمز d للدلالة على غياب العامل الوراثي الخاص بالأنتيجين D . يوضح الجدول رقم (٧) وحدات العوامل الوراثية والأنتيجينات الثانوية المعقدة الناتجة عنها بناء على نظامي Winner و Fisher & Race ومدى انتشارها في الجنس القوقازي.

No	Halotypes		Antigen Complex		%
	Winner	Fisher & Race	Winner	Fisher & Race	
1-	Ro	Dce	Rho	Dce	2.7%
2-	R1	DCe	Rh1	DCe	41%
3-	R2	DcE	Rh2	DcE	15%
4-	Rz	DCE	Rhz	DCE	0.2%
5-	r	dce	rh	dce	38%
6-	r′	dCe	rh′	dCe	0.6%
7-	r″	dcE	rh″	dcE	0.5%
8-	r^y	dCE	rh^y	dCE	0.01%

جدول رقم (٧)

تستخدم الأجسام المضادة للأنتيجينات الأساسية في نظام Rh-Hr في التعرف على أهم المجموعات الدموية (phenotypes) في هذا النظام وهي موضحة في الجدول رقم (٨).

S.No.	Cells Reactions					Phenotypes		%	Rh + ve or Rh - ve
	Rho(D)	rh (C)	hr′(c)	rh″(E)	hr″(e)	Fisher & Race	Winner		
1 -	+	-	+	-	+	Dce	Rho	85%	Rh + ve
2 -	+	+	+	-	+	DCce	Rh1rh		
3 -	+	-	+	+	+	DcEe	Rh2rh		
4 -	+	+	-	-	+	DCe	Rh1Rh1		
5 -	+	-	+	+	-	DcE	Rh2Rh2		
6 -	+	+	+	+	+	DCcEe	Rh1Rh2 (Rh2rh)		
7 -	-	-	+	-	+	dce	rh	15%	Rh - ve
8 -	-	+	+	-	+	dCce	rh′rh		
9 -	-	-	+	+	+	dcEe	rh″rh		
10-	-	+	-	-	+	dCe	rh′rh′		
11-	-	-	+	+	-	dcE	rh″rh″		
12-	-	+	+	+	+	dCcEe	rh′rh″		
13-	-	-	-	-	-		Rh null	$6x10^{-6}$	

جدول رقم (٨)

يلاحظ من الجدول السابق أن الدم يصنف بـ Rh+ ve عندما يحتوي جدار الخلايا الحمراء على الأنتيجين Rho(D) ويصنف بـ Rh-ve عندما يخلو جدار الخلايا الحمراء من الأنتيجين Rho(D) . كما يصنف كل من دم Rh+ ve و Rh-ve إلى عدد كبير من المجموعات الدموية بناء على وجود الأنتيجينات C و c و E و e في جدران الخلايا الحمراء. إلّا أن أهمها ستة مجموعات Rh+ ve وسبعة أخرى Rh-ve .

يصنف الدم الذي تخلو خلاياه الحمراء من الأنتيجينات الخمسة الأساسية والخاصة بنظام Rh-Hr بـ Rh null . يعاني المصنفون بـ Rh null من فقر دم تحللي مزمن يتميز بتكور الخلايا الحمراء المبتسمة (Stomatocytic Spherocytes) ونقص عمرها وزيادة هشاشيتها الاسموزية واحتواء مصلهم على الأجسام المضادة لبعض الأنتيجينات مثل Anti-C و Anti-e و $Anti\ Rh_{29}$. يعتبر غياب العامل الوراثي المنظم X1 أو العوامل الوراثية DCE أو الأثنين معاً سبباً لنشوء المجموعة الدموية Rh null وبناء عليه يوجد نوعين من المصنفين بـ Rh null هما:ـ

(١) Regulator - Rh null وتنشأ بسبب غياب العامل الوراثي X1 .

(٢) Amorph - Rh null وتنشأ بسبب غياب العوامل الوراثية DCE .

عند الكشف عن أنتيجينات Rh-Hr بواسطة أجسامها المضادة تبين وجودها في عدة أشكال ومستويات وبمرافقة أنتيجينات أخرى كما يلي:ـ

أـ أنتيجينات Rho(D) ومكوناتها:ـ لا تتفاعل الخلايا الحمراء التي تحمل الأنتيجين Rho(D) مع جسمه المضاد بنفس القوة دائماً. فقد يتفاعل بعضها بشكل قوي ومباشر مع الجسم المضاد Anti-D ويرمز لها بـ D(Rho) . في حين يتفاعل البعض الآخر بشكل معتدل نسبياً ومباشر ويرمز لها بـ Rho(D) وهي أكثر شيوعاً من غيرها. كما قد تتفاعل نسبة قليلة من الخلايا الحمراء التي تحمل الأنتيجين Rho(D) مع الجسم المضاد Anti-D بشكل غير مباشر بسبب ضعفه الشديد ويرمز لها بـ $Rh_u(D_u)$. لذا يجب الكشف عن وجود الأنتيجين $Rh_u(D_u)$ قبل تصنيف الدم بـ Rh-ve وذلك بمساعدة تجربة كومب غير المباشرة.

يعلل ضعف الأنتيجين $Rh_u(D_u)$ الذي يعرف بـ Rhw1 أيضاً بأي من الأسباب التالية:ـ

١ـ تداخل العوامل الوراثية حيث يتواجد العامل الوراثي الخاص بالأنتيجين C على الكـروموسـوم المقـابـل للكـروموسـوم الذي يحمل العامل الوراثي c كما يلي dCe/Dce . يصنف الشخص الذي يحمل العوامل الوراثية dCe/Dce بـ D_u في حين يصنف أطفالهم الذين يحمون العوامل الوراثية Dce/dce بـ Rho(D) . ينشأ هذا النـوع من أنتيجين D_u في الزنوج بسبب سعة انتشار العوامل الوراثية Dce بينهم. يستبعد تكوين أجسام مضادة Anti-D في مصل هؤلاء الناس عندما ينقل لهم خلايا حمراء مصنفة Rh+ ve .

٢ـ عدم اكتمال الأنتيجين D :ـ يتكون الأنتيجين D من الأنتيجينات Rh^A, Rh^B, Rh^C ، Rh^D، وينشأ عن نقص أحدها أو أكثر أحد أنواع الأنتيجين Du . يمكن أن يتكون مصل هذا النوع من Du أجسام مضادة لمكونات الأنتيجين D الناقصة عندما ينقل إليه دم Rh+ ve .

ب ـ **أنتيجينات c,C و e,E ومكوناتها**:ـ يصنف دم الإنـسان بـ + c + C و C-c+ و -C+ c كما هو الحال بالنسبة لأنتيجينات E و e في معظم الحالات باستثناء بعض الحالات النادرة التي تخلو من أنتيجينات E و e كما في حالة -DC . تتكون الأجسام المضادة Anti-CE و Anti-Ce في مصل المصنفين بـ Rh-ve بشكل عام، بسبب سعة انتشار مجموعة أنتيجينات DcE,DCe .

تعتبر أنتيجينات C^wC^x بدائل عن الأنتيجينات C أو c . يوجد الأنتيجين C^w في حوالي ٢٪ من الجنس القوقازي. يندر ظهور الأجسام المضادة Anti-C^w عند غياب Anti-C بسبب ندرة وجود أنتيجين C^w في جدران الخلايا الحمراء.

كما يظهر الأنتيجين (G) rhG مرافقاً لكل من الأنتيجينات C و D مجتمعين أو منفردين في معظم الأحيان. إذ لا يظهر الأنتيجين G بدون الأنتيجين C أو D . كما يمكن أن تتواجد الأنتيجينات C و D بدون الأنتيجين G بالرغم من ظهور الأجسام المضـادة Anti-G في معـظم الحـالات التي تظهـر فيه الأجسام المضادة Anti-C و Anti-D. لذا تظهـر أجسام مضادة للخلايا الحمراء التي تحمل الأنتيجين G في معظم حالات نقل الدم الذي تحمل خلاياه الأنتيجين C إلى المريض الذي تخلو خلاياه الحمراء من الأنتيجين C .

يندر ظهور بدائل أنتيجينات E و e في الخلايا الحمراء للجنس القوقازي في

حين تظهر بنسبة حوالي ٢٥٪ في دم الزنوج. تعتبر الأنتيجينات E^w وe^s أهم بدائل الأنتيجينات E و e .

تشير الحقائق المصلية إلى وجود أنتيجين مشابه للأنتيجين Rho(D) وغير مرتبط بأنتيجينات DCE ويرمز له بـ LW . ولا يظهر في خلاياللمصنيفين بـ Rh null .

الأجسام المضادة لأنتيجينات Rh-Hr :- تتميز معظم الأجسام المضادة الخاصة بأنتيجينات Rh-Hr (باستثناء Anti-C و Anti-E) بأنها مكتسبة ونادرة وغير كاملة ولا تحلل خلاياها الحمراء. كما قد تنشأ الأجسام المضادة لأنتيجينات Rh-Hr من جلوبولين المناعة IgA, IgM, IgG . تشير الدراسات المصلية إلى اختلاف الأجسام المضادة Anti-D التي يتم الحصول عليها من مصل الأرانب عن تلك التي تظهر في دم الإنسان عندما ينقل إليه دم Rh + ve . يستخدم المصل الذي يحتوي على الأجسام Rh IgG لابطال تأثير الأنتيجينات ومنع حدوث تفاعلات المناعة عند دخول الأنتيجين Rho(D) إلى دم المصنفين بـ Rh-ve إما عن طريق الولادة أو نقل الدم الخاطيء. لذا تعطى الوالدة المصنفة Rh-ve حقنة من مصل Rh IgG خلال ٧١ ساعة بعد الولادة. كما يعطى مصل Rh IgG بواقع ٣٠٠ ميكغم من بروتين Rh IgG لكل ١٥ ملل من دم Rh + ve تدخل عن طريق الخطأ إلى المريض المصنف بـ Rh-ve خلال ٤٨ ساعة.

نظام MNSs للمجموعات الدموية
(MNSs Blood Groups System)

تتكون أنتيجينات M و N من جالاكتوز (D-Galactose) و N- acetyl galactose amine وحامض سياليك (SialicA.) وتختلف عن بعضها بعدد جزيئات حامض سياليك في كل منها إذ تزيد بشكل ملحوظ في الأنتيجين M بالمقارنة مع الأنتيجين N .

يلاحظ قدرة بعض الأمصال المضادة Anti-M على تكتيل الخلايا الحمراء التي تحمل الأنتيجين N وعدم تكتل الخلايا الحمراء بأي من الأمصال المضادة Anti-M و Anti-N بعد تعرضها للأنزيمات التي تحلل حامض سياليك. لذا لا يمكن الكشف عن الأنتيجينات M و N بوجود الأنزيمات مثل التريبسين أو البروميلين إلخ.

تحتوي الخلايا الحمراء لحوالي ٨٠٪ من الجنس القوقازي على الأنتيجين M في حين يوجد الأنتيجين N في حوالي ٧٠٪ من الخلايا الحمراء للجنس القوقازي. يتميز نظام MN بوجود أنتيجيناته في جميع الخلايا الحمراء وبعض الأنسجة فقط وعـدم ظهـوره في سوائل وإفرازات الجسم. تتكون أنتيجينات M و N في مراحل متقدمة من تطور الجنين وقبل نشوء أنتيجينات ABH وتستكمل قوتها عند الولادة. تكون العوامل الوراثية الخاصة بأنتيجينات M و N متجانسة (Homzygous) كما هو الحـال بالنسبـة MM و NN الخاصة بالمجموعات الدموية M و N أو غير متجانسة (Hetrozygous) كما هو الحال بالنسبة للمجموعة الدموية MN . يتميز نظام MN بخلوه من أية مجموعة دموية خالية من الأنتيجينات كما هو الحال بالنسبة لـ O في نظام ABO .

يوضـح الجدول رقـم (٩) أهم المجموعات الدموية والوراثية الخاصة بنظـام MN :ـ

THE MN SYSTEM

PHENOTYPE	GENOTYPE	APPROXIMATE FREQUENCY (U.S. CAUCASOID) PER CENT
M	MM	28
N	NN	22
MN	MN	50

جدول رقم (٩)

ترافق الأنتيجينات S و s أنتيجينات M و N بشكل منتظم إذ يظهر مع كل من أنتيجينات M و N أنتيجين واحد من S أو s . تكتل الأمصال المضادة Anti-S حوالي ٥٥٪ من خلايا الجنس القوقازي وحوالي ٧٣٪ من خلايا المصنفين بـ M وحوالي ٣٢٪ من خلايا المصنفين بـ N . كما يكتل المصل المضاد Anti-s حوالي ٩٠٪ من خلايا الجنس القوقازي. تتميز العوامل الوراثية الخاصة بالأنتيجينات S و s بأنها قد تكون متجانسة (SS أو ss) أو غير متجانسة (Ss) وتنظم المجموعات الدموية S و s و Ss على التوالي كما يتضح في الجدول رقم (١٠).

S.No	Genotypes	Phenotypes	%
1	S/S	S	11
2	s/s	s	45
3	S/s	Ss	44

جدول رقم (١٠)

يمكن تصنيف الخلايا الحمراء في الجنس القوقازي بناء على تفاعلها مع الأجسام المضادة Anti-M و Anti-N و Anti-S و Anti-s كما هو موضح في الجدول رقم (١١).

S.No.	Cells Reaction				Phenotype	Genotype	%
	Anti-M	Anti-N	Anti-S	Anti-s			
1	+	-	+	-	MS	MS/MS	5.7
2	-	+	+	-	NS	NS/NS	0.3
3	+	+	+	-	MNS	MS/NS	3.9
4	+	-	-	+	Ms	Ms/Ms	10.1
5	-	+	-	+	Ns	Ns/Ns	15.6
6	+	+	-	+	MNs	Ms/Ns	22.6
7	+	-	+	+	MSs	MS/Ms	14.0
8	-	+	+	+	NSs	NS/Ns	5.4
9	+	+	+	+	MNSs	MS/Ns or Ms/NS	22.4

جدول رقم (١١)

يرافق الأنتيجينات S و s الأنتيجين U الذي يوجد في الخلايا الحمراء لمعظم أفراد الجنس القوقازي ومعظم الزنوج. لا تحمل الخلايا الحمراء الخالية من الأنتيجين U (باستثناء خلاياالمصنفين Rh_{null}) أنتيجينات S و s . يوجد الأنتيجين U في خلايا حوالي ١٦٪ من المصنفي بـ Ss . لذا يشار للخلايا الحمراء الخالية من الأنتيجين U بـ $S^u s^u$. يوجد العامل الوراثي الخاص بغياب الأنتيجين U والذي يسمى بـ U في حوالي ١٪ من الزنوج ولم يظهر في الجنس القوقازي. يشير عدم ظهور أي من أنتيجينات S و s في الخلايا الحمراء المصنفة بـU إلى وجود علاقة مصلية غير واضحة بين أنتيجينات sS والمجموعة U ويمكن الأفتراض بأن الأنتيجين U يمثل المادة الأساسية التي تتحول إلى الأنتيجينات S و s .

بالـرغم من عدم وجـود أية علاقة وراثية بين الأنتيجين U والأنتيجين Rh فإن الدلائل تشير إلى وجود علاقة مصلية بينهما. يظهر الأنتيجين U في عدد كبير من المصنفين بـ Rh_{null} . كما يوجد عدة بدائل عن أنتيجينات MNSs وأهمها M1 الذي تشبه علاقته بالأنتيجين M علاقة A1 بـ A . يوجد الأنتيجين M1 في حوالي ٢٥٪ من الـزنـوج المصنفين بـ M . كمـا توجـد الأجسام المضادة Anti-M1 في مصل المصنفين بـ N .

تصنف الخلايا الحمراء التي تخلو من جميع أنتيجينات MNSsU بـ M^k وهي تقـابل Rh_{null} في نظام Rh-Hr . يعاني المصنفون بـ M^k من وجود خلل في جدار خلاياهم الحمراء الأمر الذي يساعد على تكتلها بوجود أمصال الأجسام المضادة غير الكاملة.

تتميز الأجسام المضادة Anti-M و Anti-N بأنها IgG وباردة بشكل عام ولا تساهم في مضاعفات نقل الدم لكنها تستخدم في الطب الشرعي. أما الأجسام المضادة Anti-S و Anti-s فمعظمها IgG في حين أن جميع الأجسام المضادة Anti-U من IgG . يقل تفاعل الأجسام المضادة Anti-M و Anti-N و Anti-S مع خلاياها الحمراء إذا حضنت مع الأنزيمات في حين يبقى تفاعل الأجسام المضادة Anti-s و Anti-U مع خلاياهـا الحمـراء ثابتـاً حتى لو حضنت مع الأنزيمات. يزيد نشاط الأجسام المضـــادة Anti-M و Anti-N في الأوســـاط الحـامضية. تتميز الأجســام المضــادة للأنتيجينات M1 و N1 بأنها كاملة وباردة نسبياً (٤-٢٠°م).

نظام كيل للمجموعات الدموية

(Kell Blood Groups System)

يشبـه نظام Kell نظام Rh-Hr في تعقيداتـه وعدد أنتيجيناته وعوامله الوراثية. يحتوي نظام كيل على أربعة أزواج من الأنتيجينات الأساسية التي يمكن الكشف عنها بواسطة ثمانية أمصال مضادة وهي كما يلي:-

Anti-K , Anti-k, Anti-Kp^a, Anti-Kp^b

Anti-Js^a, Anti-Js^b, Anti-WK^a, Anti-WK^b

تقـع العـوامل الوراثية لكل من الأنتيجينات K و k على نفس الكروموسوم كما هو الحال بالنسبة للعوامل الوراثية الخاصة بـ KP^b, KP^a والخاصة بـ Js^a, Js^b وكذلك

الخاصة بـ WK·،WK· . تتوزع العوامل الوراثية الخاصة بأنتيجينات كيل الأساسية على ثمانية وحدات وراثية معقدة (Halotypes) تعتبر أربعة منها فقط مسؤولة عن نشوء ١٨ أنتيجين معقد تميز المجموعات الدموية الخاصة بنظام كيل من K1 . . . حتى K18 . يوضح الجدول رقم (١٢) أهم المجموعات الدموية في نظام كيل وسعة انتشارها في الزنوج والجنس القوقازي.

Phonotype	Antigen	%	
		Cuccacians	Nigrose
K_1	K	9.0	3.5
K_2	KK	99.1	99.9
K_3	K_p^a	2.0	< 0.1
K_4	K_p^b	> 99.1	> 99.9
K_5	Ku	—	—
K_6	Js^a	< 0.1	
K_7	Js^b	> 99.9	99.9

Phonotype	Antigen	%	
		Cuccacians	Nigrose
K_8	K^w	5.5	23
K_9	Kl	> 99.9	> 99.9
K_{10}	Ul^a	2.6	—
K_{11}	WK^b	> 99.9	—
K_{12}	Coete —	> 99.9	—
K_{16}	—		
K_{17}	WK	0.3	—
K_{18}	—	> 99.9	—

جدول رقم (١٢)

يحتوي نظام كيل على مجموعة دموية خالية من جميع أنتيجيناته تعرف بـ Knull وأخرى ضعيفة الأنتيجينات ويشار لها بـ Ko .

تقابل المجموعات الدموية Knull و Ko المجموعات الدموية Rhn null و Rhmod . يشكل الأنتيجين K^x الموجود في الخلايا البيضاء الألتهامية والخلايا الحمراء المادة الأساسية التي يحولها العامل الوراثي X_1K إلى أنتيجينات كيل.

تتكون المجموعة الدموية Knull عند عدم وجود العامل الوراثي X_1K في حين تتكون الأنتيجينات الضعيفة k و KP^b و Js^b و WK^b عند وجود العامل الوراثي X_2K

تسمى المجموعة الدموية التي تحتوي على الأنتيجينات الضعيفة Js^b, KP^b , WK· , K بمجموعة Mcleod وتتميز بخلو خلاياها الحمراء من الأنتيجين K^x وباختلاف شكل الخلايا الحمراء التي تظهر بأشكال فقارية(Acanthocytosis) وبأحجام مختلفة وخلل من بنية جدارها وزيادة نشاط الأنتيجين i مما يوحي بزيادة سرعة تكوينها بسبب زيادة سرعة تحللها. تخلو الخلايا البيضاء للأولاد فقط الذين يعانون من chronic Agranalocytoiss من الأنتيجين K^x

يعتبر الأنتيجين K من أقوى أنتيجينات المجموعات الدموية بعد A و B و D . ينقص نشـاط الأنتيجين عند تعرض الخلايا الحمراء للمركبات التي تحتوي على مجموعة SH .

يوجـد الأنتيجين K في خلايا حوالي ٩٪ من أفراد الجنس القوقازي وحوالي ٣,٥٪ من خلايا الزنوج. ويوجد الأنتيجين Js^a في خلايا أقل من ١٪ من الجنس القوقازي وفي خلايا حوالي ٢٠٪ من الزنوج.

يندر نشوء الأجسام المضادة لأنتيجينات K وتكون عادة مضادة لأنتيجينات K وأنتيجينات Js^a وتنشأ عند نقل دم + K إلى دم -K وتعتبر مسؤولة عن عدد كبير نسبياً من مضاعفات نقل الدم التحللية خارج الأوعية الدموية (Extravascular) .

يتم الكشف عن وجود الأجسام المضادة Anti-K بواسطة مصل كومب المضاد لجلوبولين الإنسان لأنها غير كاملة وغير محللة. يوضح الجدول رقم (١٣) مدى التشابه بين نظامي Kell و Rh-Hr للمجموعات الدموية.

SIMILARITY IN THE POSSIBLE GENETIC REGULATION OF THE BIOSYNTHESIS OF Rh AND KELL ANTIGENS

Precursor, unconverted		Rh_{null}	$Kell_{null}$ (K_o, K_x)
Precursor, partially converted		Rh_{mod}	McLeod type*
Original basic haplotype		*Dce*	kKp^bJs^b (most common)
Number of genes modified within a haplotype	1	*dce, DCe, DcE* (common)	KKp^bJs^b, kKp^aJs^b, kKp^bJs^a (rare)
	2	*dCe, dcE, DCE* (rare)	KKp^aJs^b, KKp^bJs^a, kKp^aJs^a (not reported)
	3	*dCE* (very rare)	KKp^aJs^a (not reported)

*Strong association with X-linked chronic granulomatous disease of boys.

جدول رقم (١٣)

نظام دَفي المجموعات الدموية

(Duffy Blood Groups System)

تنشـأ أنتيجينات دَفي بفعل ثلاثة مواقع للعوامل الوراثية هي Fy^a و Fy^b و Fy اثنين منها موجودة في خلايا الجنس القوقازي وتوجد الثلاثة في خلايا الزنوج. يتم الكشف عن أنتيجينـات نظام دَفي والتعـرف على المجموعات الدموية باستخدام الأجسام المضادة $Anti-Fy^a$ $Anti-Fy^b$. يعتبر العامل الوراثي Fy أهم العوامل الوراثية الخاصة بالمجموعات الدموية التي تميز الزنوج عن الجنس القوقازي إذ تقدر نسبة تواجده بينهم بحوالي ٨٧٪ بالمقارنة مع ٣٪ بالنسبة للجنس القوقازي.

يوضح الجدول رقم (١٤) أهم المجموعات الدموية والوراثية الخاصة بنظام دَفي وسعة انتشارها.

PHENOTYPE FREQUENCIES OF DUFFY ANTIGENS

Reactions with Anti-				Phenotype	Probable Genotype	Frequency(%) in U.S.A.	
Fy^a	Fy^b	Fy^{3*}	Fy^4			Whites	Blacks
+	−	+	+/−	Fy(a+b−)	Fy^aFy^a Fy^aFy^4	17	.03 8.97 } 9
+	+	+	−	Fy(a+b+)	Fy^aFy^b	49	1
−	+	+	+/−	Fy(a−b+)	Fy^bFy^b Fy^bFy^4	34	1.36 20.64 } 22
−	−	−	+	Fy(a−b−)	Fy^4Fy^4 (or Fy^4Fy)	Extremely rare	68

*Anti-Fy^3 reacts like anti-Fy^4, but it also reacts with cells of the original anti-Fy donor and does not react with Rh_{null} Cells

جدول رقم (١٤)

تنشأ المجموعة الدموية $Fy^{(a-b-)}$ بسبب وجود عوامل وراثية متجانسة تمنع نشوء الأنتيجينات Fy^a، Fy^b وتتميز بمقاومة خلاياها الحمراء للتحلل بطفيل الملاريا (P.vivax, P.Knoles) . ومن المعتقد أن مواقع أنتيجينات Fy^a، Fy^b تمثل مواقع دخول ميروزيوتات الملاريا (Merozoites) .

تزيد قوة الأنتيجين Fy_a عن قوة الأنتيجين Fy_b بشكل كبير. تنشأ الأجسام المضادة للأنتيجينات من بروتين المناعة IgG نتيجة عملية نقل الدم الخاطىء ويسبب مضاعفات تحللية حادة عند الأطفال حديثي الولادة.

يتم الكشف عن الأجسام المضادة لأنتيجينات دَفي بواسطة المصل المضاد للجلوبولين (Indirect Coomb's Test) . لا تستخدم الأنزيمات في الكشف عن وجود الأجسام المضادة Anti Fy^a و Anti Fy^b لأنها تحلل أنتيجيناتها وبالتالي تقلل نشاطها في حين أنها تزيد نشاط الأجسام المضادة للأنتيجينات $Fy_{3,4,5}$.

توجد الأنتيجينات Fy_3 و Fy_4 و Fy_5 . مرافقة لـ أو بدلاً عن Fy_a أو Fy_b أو الأثنين معاً ويتم الكشف عنها بواسطة أجسامها المضادة Anti-Fy_3 و Anti-Fy_4 و Anti-Fy_5 . تكتل الأجسام المضادة Anti-Fy_3 خلايا المجموعات الدموية $Fy_{(a+,b-)}$ و $Fy_{(a-,b+)}$ و $Fy_{(a+,b+)}$ ولا تكتل خلايا $Fy_{(a-,b-)}$.

كمـا تكتـل الأجسام المضادة Anti-Fy4 خلايا جميع المصنفين بـ $Fy^{(a-b-)}$ من الجنس القوقازي والزنوج وخلايا الزنوج المصنفين بـ $Fy^{(a+b-)}$ و $Fy^{(a-b+)}$. في حين تكتل الأجسام المضادة Anti-Fy5 جميع الخلايا الحمراء المصنفة بـ Fy^{a} و Fy^{b} ولا تكتـل خلايا المصنفين بـ $Fy^{(a-b-)}$ أو المصنفين Rh null الذين تحمل خلاياهم الحمراء الأنتيجينات Fy^{a} و Fy^{b} .

نظام كيد للمجموعات الدموية

(Kidd Blood Groups System)

يوجد في نظام كيد الأنتيجينات JK^{a} و JK^{b} . يوضح الجدول رقم (١٥) مختلف المجمـوعات الدموية الخاصة بنظام كيد بناءاً على إمكانية تفاعل الخلايا الحمراء مع الأجسام المضادة $Anti - JK^{a}$ و $Anti - JK^{b}$.

PHENOTYPES OF THE KIDD SYSTEM

	Reactions with Anti-			Frequency (%) in U.S.A.	
Phenotype	*Jk^a*	*Jk^b*	*Jk^ab(3)*	*Whites*	*Blacks*
Jk(a + b −)	+	−	+	28	57
Jk(a + b +)	+	+	+	49	34
Jk(a − b +)	−	+	+	23	9
Jk(a − b −)	−	−	−	Very rare	

جدول رقم (١٥)

تظهر الأجسام المضادة الخاصة بأنتيجينات JK^{a} و JK^{b} بسبب نقل الدم وتنشأ من جلوبولين المناعة IgG وهي غير كاملة. لذا يتم الكشف عن وجودها بمساعدة مصل كومب المضاد للجلوبولين.

نظام لوثيران للمجموعات الدموية

(Lutheran Blood Groups System)

يعتمـد نظام لوثيران في تصنيف الـدم إلى مجمـوعـات على إمكـانية وجـود الأنتيجينات Lu^{a} و Lu^{b} في سطوح الخلايا الحمراء. يوضح الجدول رقم (١٦) مدى سعـة انتشـار المجموعات الدموية الخاصة بنظام لوثيران بناء على تفاعل الخلايا الحمراء مع الأجسام المضادة $Anti - Lu^{a}$ و $Anti - Lu^{b}$.

PHENOTYPES
OF THE LUTHERAN SYSTEM

Phenotypes	Reactions with Anti-		Frequencies(%) in U.S.A.	
	Lu^a	Lu^b	*White*	*Black*
Lu(a+b−)	+	−	0.1	0.1
Lu(a+b+)	+	+	6.7	5.2
Lu(a−b+)	−	+	93.2	94.7
Lu(a−b−)	−	−	Very rare	

جدول رقم (١٦)

يوجد الأنتيجين Lu^a في خلايا حوالي ٩٤٪ من أفراد الزنوج والجنس القوقازي في حين يوجد الأنتيجين Lu^b في حوالي ٦٪ . من النادر العثور على أفراد تخلو خلاياهم الحمراء من أنتيجينات لوثيران ويختصوا بالمجموعة الدموية $Lu^{(a-b-)}$. قد تكون العوامل الوراثية للمجموعة $Lu^{(a-b-)}$ سائدة أو متنحية. تساهم الأجسام المضادة $Anti - Lu^a$ في مضاعفات نقل الدم أو تحلل خلايا الجنين أكثر من مساهمة الأجسام المضادة $Anti - Lu^a$ لأنها أوسع انتشاراً ويتم الكشف عنها بمساعدة مصل كومب المضاد للجلوبولين لأنها غير كاملة.

نظام Xg للمجموعات الدموية
(Xg Blood Group System)

تم اكتشاف أنتيجينات هذه المجموعة عند محاولات التغلب على عدم الموافقة للحصول على دم مناسب لمريض تكرر نقل الدم إليه.

يوجد الأنتيجين Xg^a في حوالي ٩٠٪ من عينات النساء وفي حوالي ٨٠٪ من عينات الرجال. يدل ارتباط تفاعل الأجسام المضادة لـ Xg^a بالجنس إلى وجود عامله الوراثي على الكروموسوم X الذي يتواجد متجانساً في النساء (XX) وغير متجانس في الرجال.

يوضح الجدول رقم (١٧) المجموعات الوراثية والدموية الخاصة بنظام Xg .

Phenotype	Genotype	%	
		Females	Males
Xg^a	Xg^a/Xg^a	43.4	65.9
	Xg^a/Xg	45.0	34.1
Xg	Xg/Xg	11.6	____

جدول رقم (١٧)

لا تساهم أنتيجينات Xg وأجسامها المضادة في مضاعفات نقل الدم لكنها تستخدم في عملية استبعاد الأبوة والبنوة ومتابعة بعض الأمراض الوراثية المرتبطة بالكروموسوم X مثل الناعور وعمى الألوان ونقص أنزيم Glucose-6-P Dehydrogenase .

لا يرث الذكور الأنتيجين Xg^a من آبائهم المصنفين Xg^{a+} وترثه الإناث من آبائهن عندما يأخذن منه العامل الوراثي X فقط. تكون العوامل الوراثية في الأم المصنفة Xg^a متجانسة (Xg^a / Xg^a) أو غير متجانسة (Xg^a / Xg). تورث الأم التي عواملها الورثية متجانسة الأنتيجين Xg^a لجميع أطفالها والتي عواملها الوراثية غير متجانسة لأبنائها وبناتها بنسب متساوية عندما يكون الأب Xg^a .

يوضح الجدول رقم (١٨) المجموعات الدموية لعدد آخر من نظم المجموعات الدموية.

SOME ERYTHROCYTE SYSTEMS WITH TWO KNOWN ANTITHETICAL ANTIGENS

	Phenotypes				Implicated in	
		Frequency (%)				
System	Designated	Whites	Blacks	Optimal Reaction	Hemolytic Transfusion Reaction	Hemolytic Disease of the Newborn
Colton	Co(a − b −)	99.3	100	AGT with		Mild
	Co(a + b −)	10.4		enzyme		
	Co(a − b +)	0.3	<0.1	treated cells		
	Co(a − b −)	<0.1				
Dombrock	Do(a + b −)	17.2	9.4	AGT with		Mild
	Do(a − b −)	49.5	42.5	enzyme		
	Do(a − b +)	33.3	48.1	treated cells		
Diego	Di(a + b −)	<0.1*	<0.1	AGT		Yes
	Di(a + b +)	<0.1	0.5			
	Di(a − b +)	>99.9	99.5			
Scianna (Sm-Burrell)	Sc:1.2	<0.1		Some AGT	Yes	Yes
	Sc: − 1.2	0.3		Some saline		
	Sc:1. − 2	99.7	100			
	Sc: − 1. − 2	<0.1				
Wright	Wr(a + b −)	<0.1	0	Many saline		
	Wr(a + b +)	<0.1	0	All temperatures		
	Wr(a − b +)	>99.9	100	Some AGT		
	Wr(a − b −)	<0.1				
Cartwright	Yt(a + b −)	91.9	91.6	AGT, 37°C.	Yes	
	Yt(a + b +)	7.8	8.2			
	Yt(a − b +)	0.3	0.2			

*2.5% Chinese, 16% Japanese, 11% Chippewa Indian, 36% Carith Indians.

جدول رقم (١٨)

الفصل الرابع

ـ نظم المجموعات الدموية البروتينية Km, Gm والهابتوجلوبينات و Gc

نظم المجموعات الدموية البروتينية

أتـاحت التجارب الدقيقة المستخدمة في فصل بروتينات المصل عن بعضها فرصة تصنيف الدم إلى مجموعات وراثية مختلفة كما هو موضح في الجدول رقم (١٩).

System	Globulin fraction	Common Genes	Common phenotypes in Caucasians	Method of detection
Gm	IgG (heavy chains)	Gm^1 (Gm^a) Gm^2 (Gm^x) Gm^{12} (Gm^b)	Gm (1, 2, 12) Gm (1, -2, 12) Gm (-1, -2, 12)	Inhibition of agglutination of globulin coated red cells by anti-Gm
Inv	IgG, IgA, IgM (light chains)	*Inv 1* *Inv 2*	Inv (-1, 2) Inv (1, 2) Inv (1, -2)	Inhibition of agglutination of globulin coated red cells by anti-Inv.
Gc	α_2	Gc^1 Gc^2	Gc 1 Gc 2−1 Gc 2	Immuno-electrophoresis in agar
Ag	β_1 lipoprotein	Ag^a *Ag*	Ag (a+) Ag (a−)	Agar gel precipitation.
Lp	β_1 lipoprotein	Lp^a *Lp*	Lp (a+) Lp (a−)	Agar gel precipitation.
Haptoglobins	α_2	Hp^1 Hp^2	Hp 1 Hp 2−1 Hp 2	Starch gel electrophoresis.
Transferrins	β_1	*TfC* *TfB* *TfD*	C BC CD	Starch gel electrophoresis.

جدول رقم (١٩)

تعتبر نظم Gm والهابتوجلوبينات و Gc أهم نظم المجموعات الدموية البروتينية. يتم التعـرف على أنتيجينـات نظام Gm وعلى أجسـامه المضادة بالطرق المصلية المستخدمة لمعرفة أنتيجينات الخلايا الحمراء وعلى أنتيجينات الهابتوجلوبين Hp بالترحيل الكهربائي في هلام الأجار وعلى أنتيجينات Gc بالترحيل الكهربائي المناعي.

نظام Gm للمجموعات الدموية البروتينية

Gm Proteins Blood group System

لاحظ جروب ولوريل (Grubb & Laurel) عام ١٩٥٦ قدرة الأمصال المخففة لبعض الأفـراد وخـاصة المصابين بروماتيزم المفاصل على تكتيل الخلايا الحمراء Rh +ve التي تحمل الأجسام المضادة Anti-D . وقد لاحظ جروب أن مصل حوالي ٦٠٪ من السويديين يمنع هذا التكتل بشكل موروث. وقد تبين لاحقاً أن هذا العامل المبـطل للتكتل يمثل جزءاً من جلوبولين جاما. يصنف الدم الذي يحتوي على الأنتيجين المبطل لتكتل الخلايا الحمراء بـ(+Gm(a ويصنف الدم الذي يخلو من الأنتيجين المبـطل لتكتـل الخلايا الحمراء بـ (-Gm(a . سمي الأنتيجين المبطل لتكتل الخلايا الحمراء بالمكتل الروماتيزمي (R agg) وهو ناشىء عن وجود أجسام مضـادة للجاماجلوبولين (Anti-Gm) والتي تتفاعل مع الأنتيجينات وتدخل في بناء الأجسـام المضـادة Anti-D . تشبـه الأجسـام المضـادة للأنتيجين Gm (المكتل الـرومـاتيزمي) في عملهـا مصل كومب المضاد لجلوبولين الإنسان AHG . يشار للأنتيجين Gm الذي يساهم في بناء الأجسام المضادة Anti-D بـ Gm1 .

يشتمـــل نظام Gm على ما لا يقـل عن ٢٥ أنتيجين تظهـر في السـلاسـل الثقيلة لجلوبولينات المناعة IgG1 و IgG2 و IgG3 ولا تظهر في جلوبولينات المناعة IgM و IgA ويقـع معظمها في الجزء القابل للذوبان (Fd) . يوضح الجدول رقم (٢٠) رموز وأرقام الأنتيجينـات الخـاصـة بنـظام Gm وعلاقة كل منها بجلوبولينات المناعة (IgGs) حيث يلاحظ أن معظمها موجود في IgG1 و IgG3 وأنتيجين واحد في HgG2 ولا يوجد أي منها في IgG4 .

تتميز أنتيجينات Gm الموجودة في IgG1 بأنها أكبر عدداً وأشد فعالية من الأنتيجينات الموجودة في Ig3 . تعتبر الأنتيجينات Gm1 و Gm2 و Gm5 أكثر أنتيجينات Gm انتشاراً وأشدها فعالية. تظهر العوامل الوراثية للأنتيجينات Gm1 و Gm2 في معظم الحالات مع بعضهـا. كما تظهر العوامل الوراثية للأنتيجينات Gm1 و Gm5 في الزنوج مترافقة وفي الجنس القوقازي متفرقة. يختلف تأثير العوامل الوراثية في نظام Gm عن تأثيرها في نظام Rh-Hr في أن كل خلية حمراء تحمل جميع الأنتيجينات الخاصة بوحدة العوامل الوراثية

Nomenclature Alphabetical	Numerical	IgG subclass
a	1	1
x	2	1
f	3, 4	1
b or b^1	5, 12	3
c^3	6	3
r	7	1
e	8	?
p	9	1
b^5	10	3
b^0	11	3
b^3	13, 25	3
b^4	14	3
s	15	3
t	16	3
z	17	1
Rouen 2	18	1
Rouen 3	19	?
San Francisco 2	20	1
g	21	3
y	22	1
n	23	2
c^5	24	3
Pa	–	3

(جدول رقم ٢٠)

في نظام Rh-Hr أما في نظام Gm فيحمل كل جلوبولين أحد الأنتيجينات الخاصة بوحدة العوامل الوراثية. لذا تحمل بعض جلوبولينات المجموعة الدموية Gm1,5 الأنتيجين Gm1 وبعضها الآخر الأنتيجين Gm5 في حين تحمل جميع الخلايا الحمراء الخاصة بالمجموعة الدموية CDE الأنتيجينات C و D و E .

يندر ظهور الأجسام المضادة الخاصة بأنتيجينات Gm وغالباً ما تكون مضادة للأنتيجينات Gm1 و Gm2 و Gm5 . تظهر الأجسام المضادة Anti-Gm في الأطفال أكثر من ظهورها في البالغين. كما لوحظ ظهورها في ١٧ من كل ٢٤ طفل يعاني من فقر دم كولي ونقلت إليهم عدة وجدات من الدم وفي ١١ من كل ٣٢ طفل استبدل دمهم عند الولادة بسبب معاناتهم من مضاعفات فقر الدم التحللي عند الأطفال حديثي الولادة.

الكشف عن الأجسام المضادة Anti-Gms

يستخدم للكشف عن الأجسام المضادة لأنتيجينات نظام Gm معلّق خلايا حمراء O+ ve وخاصة تلك التي تحمل العوامل الوراثية CDe/CDe أو CDe/cDE وتفاعلت مع الأمصال Anti-D لمدة ساعة في درجة ٣٧°م بعد خلطها بنسب تحدد

بالتجربة والخطأ ومن ثم تغسل ثلاث مرات بالمحلول الملحي. يجب أن تتكتل الخلايا الحمراء O+ ve المكسوة بلأجسام المضاة (Anti-D) مع المصل المضاد AHG بشكل قوي.

تخفف عينة المصل بنسبة ١:٥ بالمحلول الملحي قبل خلطها مع حجم مساوٍ من محلول ٢٪ خلايا حمراء O+ ve مكسوة بـ Anti-D وتحفظ بدرجة حرارة الغرفة لمدة ساعة ومن ثم يتم التأكد من تكتل الخلايا الحمراء بمقارنتها مع انبوبة ضابطة تحتوي على عينة المصل المخففة مع معلّق خلايا حمراء O+ ve غير مكسوة بالأجسام المضادة Anti-D .

تتميز العينات مكتلات الروماتيزم (R agg) بارتفاع تركيز الأجسام المضادة لأنتيجينات Gm . لذا يجب تخفيفها عدة مرات ١:٥ و١:١٠ و١:٥٠ بالمحلول الملحي لمنع ظاهرة مقدمة التكتل (Prozone) .

نظام (Km) للمجموعات الدموية البروتينية

تظهر أنتيجينات نظام Km في سلاسل البتايد الخفيفة كابا (Kappa = K) لجلوبولينات المناعة IgG و IgA و IgM وكانت تعرف باسم أنتيجينات INV .

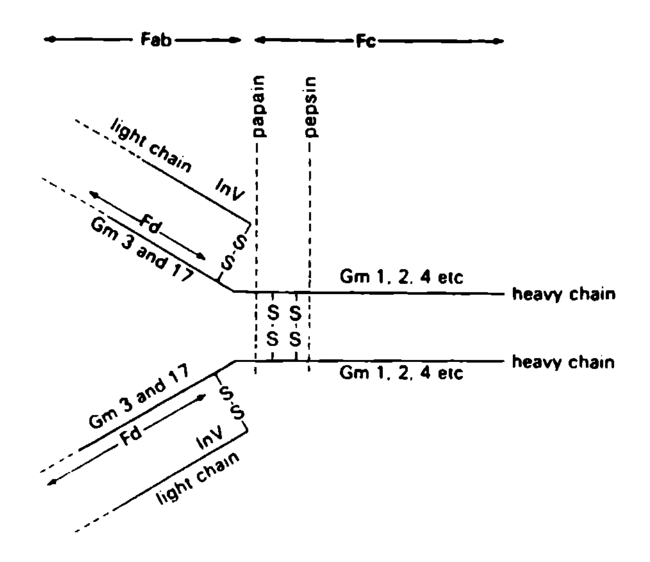
يحتوي نظام Km على ثلاثة أنتيجينات تنشأ بفعل عاملين وراثيين مترافقين Km(1) و Km(2) التي تتحرك مع بعضها وتقع في نفس موقع العامل Km(3) . لا توجد أية علاقة بين نظامي Gm و Km . وفي ما يلي مدى انتشار المجموعات الدموية الخاصة بنظام Km في الجنس القوقازي.

Km(1-2) - 1.6%

Km(12) - 16.0%

Km(-1-2) - 82.4%

يوضح الشكل رقم (٦) مواقع أنتيجينات كل من نظامي Gm و Km في جزيئات جلوبولينات المناعة.



شكل رقم (٦)

ولأسباب عملية يتم التعرف على المجموعات الدموية الخاصة بنظام Km باستخدام الأجسام المضادة Anti-Km(1) وذلك بسبب ندرة وجود الأجسام المضادة Anti-Km(2) . يظهر الأنتيجين Km(3) في مصل معظم المصنفين بـ Km(-1-2) . تظهر الأجسام المضادة لأنتيجينات Km عادة في مصل الأفراد الطبيعيين. كما تبين وجود الأنتيجين Km(1) في السائل المنوي واللعاب. يتم التعرف على المجموعات الدموية لنظام Km بنفس طريقة التعرف على مجموعات نظام Gm باستثناء ضرورة احتواء الجسم المضاد Anti-D على أنتيجين Km المناسب.

نظام الهابتوجلوبين للمجموعات الدموية البروتينية

تظهر الهابتوجلوبينات في مصل الإنسان بفعل عاملين وراثيين هما Hp1 و Hp2 ويتم الكشف عنها بالترحيل الكهربائي الذي يستخدم هلام النشا أو الأجار. يحتوي نظام الهابتوجلوبين على ثلاثة مجموعات دموية موزعة على أفراد الجنس القوقازي بالنسب التالية:-

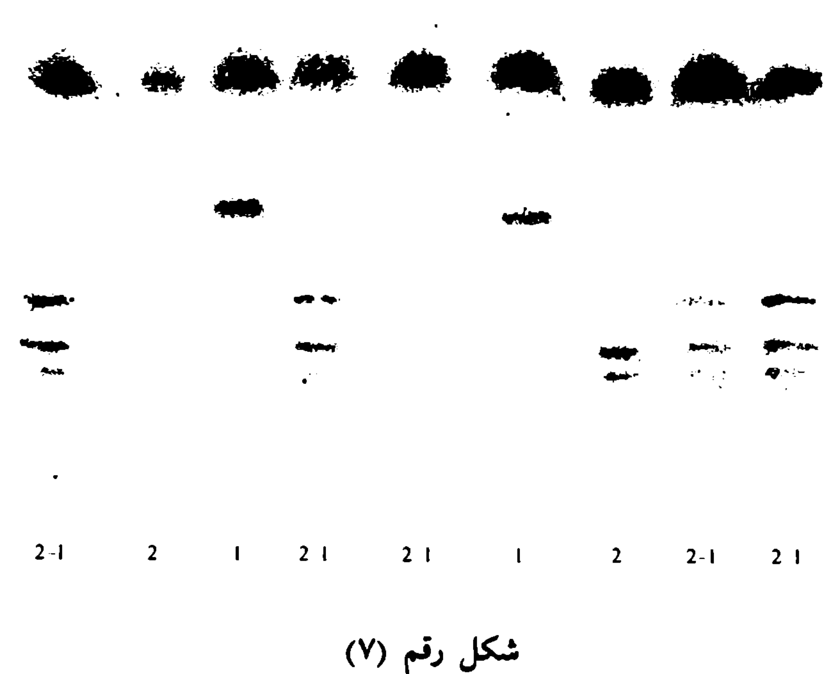
Hp1 -- 18%

Hp2-1 -- 49%

Hp2 -- 33%

Hpo -- 0.003%

يظهر الهابتوجلوبين الخاص بالمجموعة الدموية Hp1 على هيئة شريط كثيف يتبـع شريط اليهيمـوجلوبين الحـر من جهـة القـطب السـالب. في حين تظهـر الهـابتوجلوبينات الخاصة بالمجموعات الدموية Hp2-1 و Hp2 على هيئة حزم من الخطوط بين القطب السالب وموقع شريط Hp1 بشكل مستقل. يقع الشريط Hp1 المتمم للمجموعة الدموية Hp2-1 في نفس موقعه في المجموعة الدموية Hp1 ولكن بكثافة أقل. لا يظهر شريط Hp1 في المجموعة الدموية Hp2 . يوضح الشكل رقم (٧) صورة فوتوغرافية لعملية فصل هابتوجلوبينات المجموعات Hp1 و Hp2-1 و Hp2 باستخدام هلام النشا للترحيل الكهربائي.



شكل رقم (٧)

تظهر المجموعة الدموية Hp2-1 مطورة بحيث تزيد كثافة الخطوط السريعة في حوالي ١٠٪ من الزنوج وقد تزيد كثافة الخطوط Hp2 حيث تسمى المجموعة في هذه الحالة HpCo . كما لا تظهر الهابتوجلوبينات في حوالي ٠,٠٠٣٪ من الجنس القوقازي بسبب عدم كفاءة العوامل الوراثية وتزيد هذه النسبة بين الزنوج وتلعب دوراً هاماً في استبعاد الأبوة ويرمز لها بـ Hpo .

نظام Gc للمجموعات الدموية البروتينية

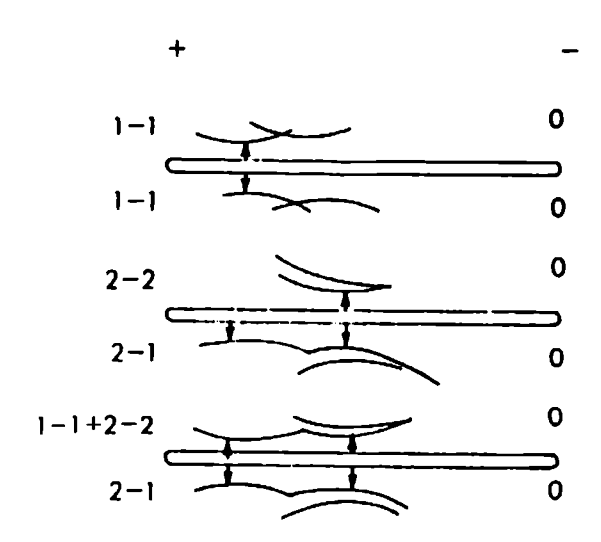
يعتمد هذا النظام على اختلاف طبيعة الجلوبولين الفا-٢ (∝ -2 globulin) لأسباب وراثية. وقد تم التعرف على ثلاثة مجموعات خاصة بنظام Gc موزعة على أفراد الجنس القوقازي كما يلي:-

Gc(1) -- 53.1%

Gc(2-1) -- 40.3%

Gc(2) -- 06.6%

يتم التعرف على المجموعات الدموية الخاصة بنظام Gc بواسطة الترحيل الكهربائي المناعي. يوضح الشكل رقم (٨) شكل الأقواس المناعية التي تظهر في كل من مجموعات نظام Gc .



شكل رقم (٨)

تتمثل أهمية نظام Gc في استبعاد الأبوة إذ يساهم في حوالي ١٥٪ من فرص الاستبعاد.

الفصل الخامس

النظام الأساسي في التوافق النسيجي

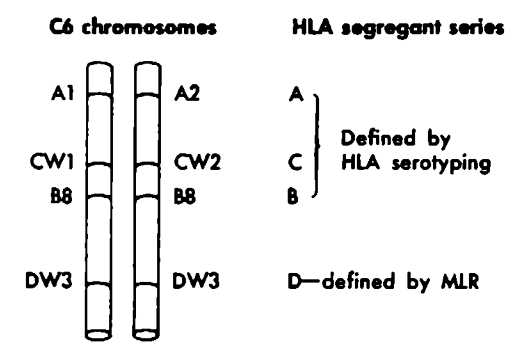
Major Histo Comatibility Complex (HLA)

أنتيجينات الأنسجة وأجسامها المضادة

(Tissue antigens & Anti bodies)

تحمل خلايا أنسجة الجسم المختلفة باستثناء الخلايا الحمراء أنتيجينات خلاياه البيضاء (Human Leucocytic Antigents) التي يرمز لها بـ HLA . تعتبر أنتيجينات الخلايا البيضاء (HLA) مسؤولة بشكل رئيسي عن التوافق النسيجي عند نقل الأنسجة والأعضاء وعن مدى تقبل الجسم للنسيج أو العضو المنقول. يمكن التعامل مع أنتيجينات HLA الموجودة في سطح الخلايا الليمفاوية باستخدام الوسائل المصلية المناسبة. يعتبر التوافق بناء على HLA الثاني في أهميته لنقل الأعضاء بعد التوافق بناء على أنتيجينات ABO . كما تلعب HLA دوراً هاماً في عمليات النقل المكثف للصفائح الدموية والمحببات البيضاء. يجب استبعاد الأجسام المضادة لأنتيجينات خلايا المتبرع البيضاء من مصل المريض قبل نقل الأنسجة أو نقل الصفائح الدموية أو الخلايا البيضاء. تعتبر الأجسام المضادة للخلايا الليمفاوية الخاصة بالمتبرع مسؤولة عن عدم تقبل النسيج المنقول ورفضه بشكل سريع وعن عدم فعالية نقل الصفائح الدموية. كما يمكن استخدام HLA في دراسة علم الأجناس، وترابط الأمراض واستبعاد الأبوة.

تنشأ أنتيجينات HLA بتأثير بعض العوامل الوراثية الموجودة على هيئة رباعيات (Halotyps) في الذراع القصير الخاص بالكروموسوم رقم ٦ . والذي يعرف بموقع HLA . يوضح الشكل رقم (٩) خريطة وراثية للجزء الأوسط من الذراع القصير للكروموسوم السادس.



شكل رقم (٩)

تتشابه التسمية في نظام HLA للمجموعات النسيجية ونظام Rh-Hr للمجموعات الدموية وخاصة بناء على تسمية Fisher & Race . تترابط العوامل الوراثية C,D,E في وحدات كما تترابط العوامل الوراثية لكل من العوامل الوراثية الخاصة بأنتيجينات HLA-A ، HLA-C ، و HLA-D . يوضح الجدول رقم (٢١) أهم العوامل الوراثية الخاصة بأنتيجينات نظام HLA ويلاحظ فيه عدد من بدائل مواقع العوامل A و B المعتمدة. يشار لعوامل الأنتيجينات غير المعتمدة رسمياً من قبل المنظمات الدولية والتي ما زالت قيد البحث بالحرف (workshop) w .

يحتوي جسم الإنسان البالغ على زوج من كروموسومات C6 ويحتوي كل منها على المواقع A و B و C و D . لذا يتأثر نشوء أنتيجينات HLA بثمانية عوامل وراثية. يحتوي نظام HLA على ثماني أنتيجينات لا تظهر دائماً بسبب نقص الإمكانات الفنية أو بسبب وجود أجسامها المضادة أو بسبب تجانس العوامل في أي من المواقع أو عدم توفر المعلومات الوراثية في أي موقع. وهي كما يلي :-

HLA - A, B, C, D, DR, MB, MT, DC, BR

أنتيجينات HLA

يعتبر B2 -microglobulin المادة الأساسية لتكوين أنتيجينات HLA . يشبه ترتيب الأحماض الأمينية في B2 -microglobulin ترتيبها في سلاسل جلوبولين المناعة (Ig) الخفيفة وترتيبها في السلسلة الخفيفة لأنتيجين HLA وترتبط بعلاقة ما

NOMENCLATURE FOR FACTORS
OF THE HLA SYSTEM

Locus A	**Locus B**	**Locus D**
A1	B5•	Dw1
A2	B7-	Dw2
A3	B8-	Dw3
A9	B12•-	Dw4
A10	B13•	Dw5
A11	B14-	Dw6
A25 (10)	B15•-	Dw7
A26 (10)	B17•	Dw8
A28	B18-	Dw9
A29 (19)	B27•	Dw10
Aw19	B37•	Dw11
Aw23 (9)	B40+	Dw12
Aw24 (9)	B16•	
Aw30 (19)	Bw21•-	**Locus DR**
Aw31 (19)	Bw22-	DR1
Aw32 (19)	Bw35-	DR2
Aw33 (19)	Bw38•(16)	DR3
Aw34	Bw39-(16)	DR4
Aw36	Bw41-	DR5
Aw43	Bw42-	DR6
	Bw44•(12)	DRw7
Locus C	Bw45-(12)	DRw8
Cw1	Bw46-	DRw9
Cw2	Bw47-	DRw10
Cw3	Bw48-	
Cw4	Bw49•(21)	
Cw5	Bw50-(21)	
Cw6	Bw51•(5)	
Cw7	Bw52•(5)	
Cw8	Bw53•	
	Bw54-(22)	
	Bw55-(22)	
	Bw56-(22)	
	Bw57-(17)	
	Bw58-(17)	
	Bw59•(8)	
	Bw60-(40)	
	Bw61-(40)	
	Bw62-(15)	
	Bw63•(15)	

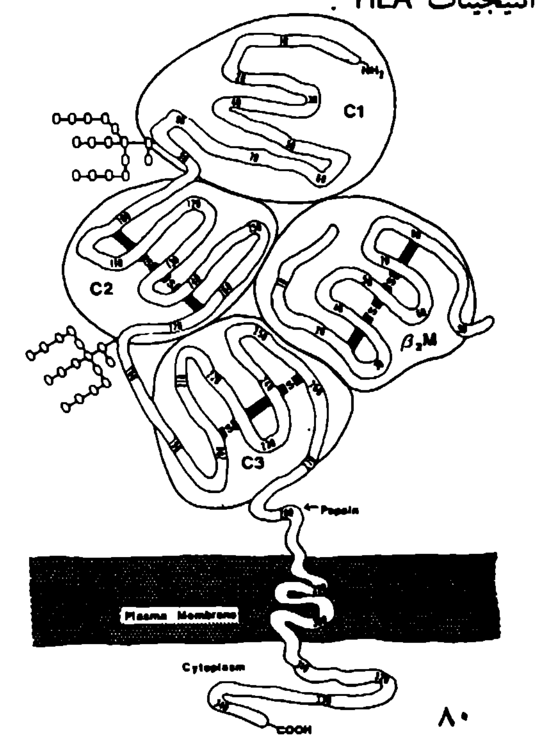
The numbers in parentheses represent previous assignments (supertypic specificity). HLA-B locus antigens can be further typed by their reactivity with HLA-Bw4 and HLA-Bw6 antisera indicated by • or -.

جدول رقم (٢١)

مع بروتينات بنس جون. يوجد الميكروجلوبولين بيتا-٢ في سطح الخلايا الليمفاوية التي يعتقد بقدرتها على تكوينه. لذا قد يشكل الميكروجلوبولين بيتا-٢ حلقة الوصل بين النظام المناعي ونظام التوافق النسيجي. تكتمل أنتيجينات HLA بارتباط المكيروجلوبولين بيتا-٢ بسلسلة ببتايد ثقيلة. تصنف سلاسل الببتايد الثقيلة في

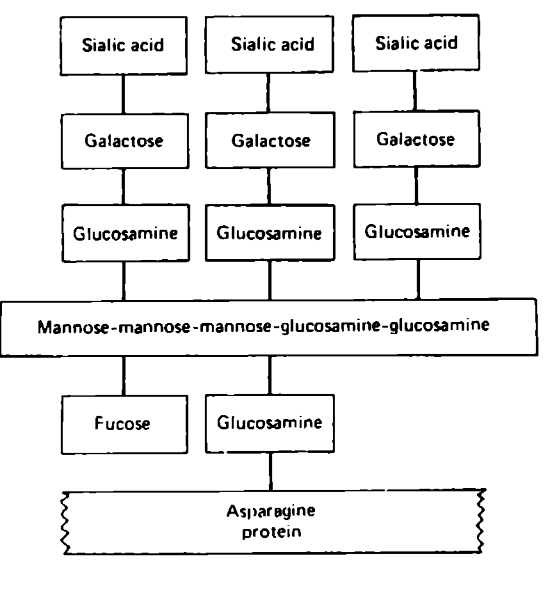
أنتيجينات HLA إلى نوعين. يقدر الوزن الجزيئي لسلسلة الببتايد الثقيلة بـ ٤٤٠٠٠ دالتون والوزن الجزيئي للمايكروجلوبولين بيتا-٢ بـ ١١,٦٠٠ دالتون. تختلف أنتيجينات HLA عن بعضها بترتيب ونوعية الأحماض الأمينية في السلاسل الثقيلة.

توجد السلاسل الثقيلة من النوع الأول (Class 1) في أنتيجينات HLA-A,B,C وتتكون من بروتين نشوي يقطع الغشاء الخلوي من سطح السيتوبلازم إلى الخارج. تمتد جزيئات HLA-A,B,C من خلال الغشاء الخلوي بحيث تتجه النهاية الأمينية نحو سطح الخلية ونهايتها الكاربوكسيلية نحو السيتوبلازم وتقسم إلى ٥ أجزاء يبرز منها ثلاثة خارج سطح الخلية ويشار لها من النهاية الأمينية ألفا-١ (C-1) وألفا-٢ (C-2) وألفا-٣ (C-3) على التوالي. يتكون كل من الأجزاء الثلاثة السابقة من ٩٠ حامض أميني. تحتوي الأجزاء C-2 و C-3 على رابطة ثنائية الكبريت. ترتبط السلسلة الثقيلة مع الميكروجلوبولين بيتا-٢ عن طريق الجزء C-3 الذي يرتبط بدوره مع الجزء المغموس في سطح الخلية الليمفاوية ويتكون من منطقتين تقع إحداهما داخل غشاء الخلية وتحتوي على ٢٥ حامض أميني (٢٨٥ - ٣١٠) وتتميز بنفورها من الماء يليها الجزء المغموس في السيتوبلازم وينتهي بمجموعة كاربوكسيل ويتميز بعشقه للماء وقاعديته الضعيفة. يوضح الشكل رقم (١٠) أجزاء سلسلة الببتايد الثقيلة الخاصة بالنوع الأول من أنتيجينات HLA.



الشكل رقم (١٠)

ترتبط سلسلة الببتايد الثقيلة مع مركبين نشويين معقدين من خلال سلاسل ببتايد الاسباراجين ٨٦ و١٧٥ (Asparagine) ويتكون كل منها من خمسة عشر جزيء من السكريات الأحادية. يوضح الشكل رقم (١١) الطبيعة الكيميائية للمركبات النشوية المعقدة التي تساهم في تكوين أنتيجينات HLA .



الشكل رقم (١١)

تختلف أنتيجينات HLA-A,B,C عن بعضها في ترتيب الأحماض الأمينية الواقعة ما بين ٤٣ - ١٩٥ في أي من المواقع التالية :-

٦٥ - ٨٠ و ١٠٥ - ١١٦ و ١٧٧ - ١٩٤

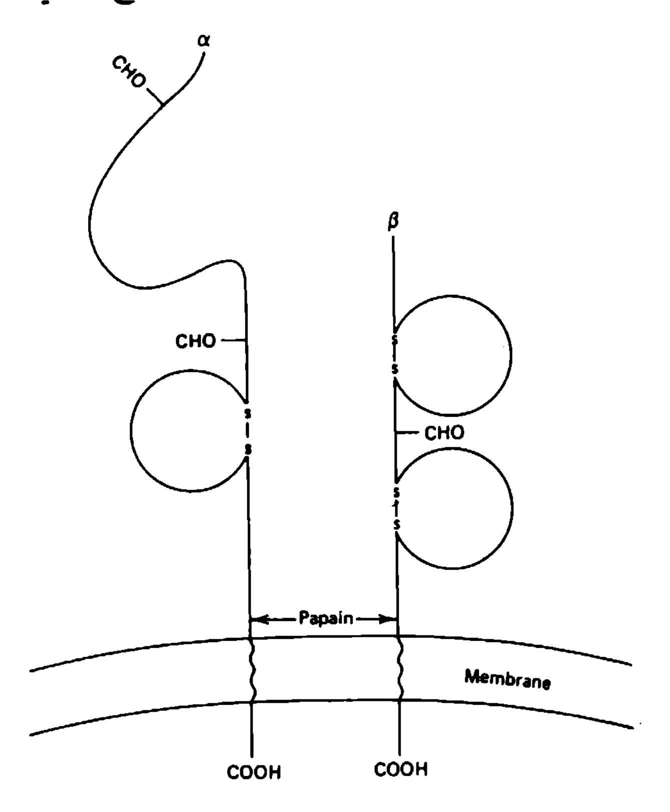
تعمل سلاسل النوع الأول على تمييز الخلايا الليمفاوية المصابة بالفيروسات لاقتلاعها.

توجد سلاسل النوع الثاني (Class II) في أنتيجينات D/DR وDC/MB وsB وتشبه سلاسل النوع الأول في امتدادها خلال غشاء الخلية وفي اتجاهات ومواقع نهاياتها الكاربوكسيلية والأمينية.

تصنف سلاسل النوع الثاني إلى الفا (∝) وبيتا (B) وتقدر أوزانها الجزيئية بحوالي ٣٣٠٠٠ - ٣٤٠٠٠ و ٢٧٠٠٠ - ٣٠٠٠٠ دالتون على التوالي. تحمل سلسلة الببتايد

الفـا (∝) في جزئها الخارجي مجموعتين نشويتين وحلقة ثنائية الكبريت تقع قرب السطح . أما السلسلة بيتا (B) فتحمل في جزئها الخارجي مجموعة نشوية واحدة بين حلقتين ثنائية الكبريت.

يوضح الشكل رقم (١٢) أجزاء سلاسل ببتايد النوع الثاني وأشكالها.



الشكل رقم (١٢)

تقوم سلاسل النوع الثاني بتقديم الأنتيجين لخلايا T المساعدة.

قد يتجزأ الأنتيجين HLA-A9 إلى جزئين متشابهين مثل HLA-Aw و HLA-Aw23 والأنتيجين HLA-A10 إلى HLA-Aw25 و HLA-Aw26 .

تسمى الأنتيجينات النسيجية (HLA) التي يتم التعرف عليها بواسطة المصل بالأنتيجينات المصلية (Serologically defined = SD) والتي يتم التعرف عليها بتفاعل الخلايا الليمفاوية مع خلايا ليمفاوية أخرى بالأنتيجينات الليمفاوية (LD) (Lymphocytically defined = .

الأجسام المضادة الخاصة بأنتيجينات HLA

تتميز معظم الأجسام المضادة الخاصة بأنتيجينات HLA بأنها من نوع IgG ويحتاج الكشف عن معظمها لتثبيت المتمم ويمكن الكشف عن بعضها بالتكتل. تختلف الأجسام المضادة Anti-HLA المسممة للخلايا في قوتها وسعة انتشار بشكل ملموس. كما تختلف نتائج تفاعل الخلايا البيضاء الخاصة بأفراد مجموعة مكونة من ٢٠ فرداً تحمل الأنتيجين HLA (مثل HLA-A12) مع المصل المضاد الخاص بالأنتيجين. يشار للأجسام المضادة التي تتفاعل مع معظم الخلايا البيضاء التي تحمل أنتيجيناتها بالطويلة (Long Antibodies) ولتلك التي تتفاعل مع بعض الخلايا البيضاء التي تحمل انتيجيناتها بالقصيرة (Short Antibodies) . تتميز بعض الأجسام المضادة بتجاوز أنتيجيناتها إذ تتفاعل مع عدة أنتيجينات بقوة متفاوتة. لذا يتفاعل الجسم المضاد Anti-HLA-Bw35 مع الأنتيجينات HLA-Bw5 و HLA-Bw15 بقوة متفاوتة.

يوضح الجدول رقم (٢٢) بعض الأجسام المضادة المتجاوزة والخاصة بالمواقع A و B .

Cross-reactive HLA antigens

HLA-A locus	*HLA-B locus*
A1, A3, A11	B5, B18, Bw15, Bw17, Bw21, Bw35
A2, A28	B7, B27, Bw22
A9, Aw23, Aw24	B7, B13, Bw40
A10, A11, Awat, Aw26, Aw32	B8, B14
Aw30, Aw31, Aw32, Aw33	Bw16, Bw38, Bw39

جدول رقم (٢٢)

وقد تكون بعض الأجسام المضادة أجساماً مضادة إضافية ضعيفة غير الأجسام المضادة الخاصة بالأنتيجين المنبه.

الترابط غير متزن (Linkage Disequilibrium)

توجد بعض العوامل الوراثية وكذلك أنتيجيناتها HLA مترابطة مع بعضها بشكل لا يتسق مع سعة انتشارها بشكل فردي. يوضح الجدول رقم (٢٣) بعض حالات ترابط أنتيجينات HLA بشكل غير متزن.

HLA alleles frequently associated (possibly through disequilibrium)

Loci		
A and B	*C and B*	*B and D*
A1, B8	Cw1, B27	Bw35, Dw1
A3, B7	Cw2, B27	B7, Dw2
A2, B12	Cw2, Bw40	B8, Dw3
	Cw3, Bw15	Bw15, Dw4
	Cw4, Bw35	Bw16, Dw5
	Cw5, B12	

جدول رقم (٢٣)

يعيق الترابط غير المتزن بين العوامل الخاصة بالمواقع B و D تحديد المجموعات المصلية لنظام HLA علماً أن عدم التوافق مع أنتيجينات الموقع B يرافقه عادة توافق مع أنتيجينات الموقع D .

الموافقة النسيجية

(Histocompatibility)

يعتبر التوافق بين المتبرع والمريض بناء على نظام ABO للمجموعات الدموية ونظام HLA للمجموعات النسيجية أول مراحل التوافق النسيجي. تكتمل عملية التوافق النسيجي بين المتبرع والمريض باستبعاد الأجسام المضادة غير المتوقعة لأنتيجينات الخلايا الحمراء وأنتيجينات HLA من مصل المتبرع والمريض وخاصة عند نقل بعض مكونات الدم كالصفائح والمحببات التي قد تحتوي على كميات كبيرة من الخلايا الحمراء. يجب القيام بالموافقة النسيجية باستخدام الطرق المصلية (S.D) والطرق الليمفاوية (L.D) . يرافق انتقال الأجسام المضادة لخلايا المريض البيضاء والموجودة في مصل المتبرع تجمع راشح رئوي حاد وضيق تنفس شديد. كما تزيد سرعة رفض النسيج المنقول وترتفع درجة الحرارة بدون تحلل الخلايا الحمراء وتقل أو تنعدم فعالية نقل الصفائح الدموية أو المحببات عند توفر الأجسام المضادة المكتلة للخلايا البيضاء أو المسممة للخلايا اللميفاوية في مصل المتبرع.

الكشف عن أنتيجينات HLA باستخدام الأمصال (S.D)

تتميز طرق الكشف عن أنتيجينات HLA بأبطال خليط من الخلايا الليمفاوية (polylymphocytoxic) ببساطتها وشدة حساسيتها وعدم حاجتها لأجهزة مكلفة بالمقارنة مع طرق التكتل المصلي المكلفة والمعقدة.

تتمثل هذه الطرق بحضن ١ ميكل من معلّق خلايا ليمفاوية نقية مع ١ ميكل من المصل بدرجة حرارة الغرفة لمدة نصف ساعة وإضافة ٥ ميكل من متمم الأرانب. تستمر الحضانة لمدة ساعة أخرى قبل إضافة صبغة Eosin . تمتص الخلايا الليمفاوية التالفة أو غير الفعالة صبغة الأيوسين في حالة وجود الأنتيجين HLA الذي يتناسب مع المصل المضاد. يجب استخدام نوعين من أفضل الأمصال المضادة من مصادر مختلفة للتعرف على وجود الأنتيجين وذلك بسبب التباين الملحوظ في فعاليتها.

الكشف عن أنتيجينات HLA باستخدام معلق الخلايا الليمفاوية (LD)

تعتمد طرق الكشف الليمفاوية (LD) عن أنتيجينات HLA على رد فعل الخلايا الليمفاوية المستقبلة على أنتيجينات الخلايا الليمفاوية المنبهة. تعتبر زراعة خليط الخلايا الليمفاوية (Mixedlymphcyticculture MLC) من أنجع الوسائل للكشف عن أنتيجينــات HLA ولإجــراء المــوافقــة النسيجية. يستخــدم الثـايمـدين المشـع (H3-Thymidine) بنسبـة ١-٢ ميكـروكـوري (2-3 Dci/mM) لقياس درجـة تفاعل الخلايا الليمفاوية المنبهة والمستقبلة. يستوعب DNA الخلايا المنشطة حديثاً كميات كبيرة من الثـايمـدين المشع عند إثارته للخلايا المستقبلة. تستخدم زراعة خليط الخـلايا الليمفاوية (MLC) في الكشف عن مختلف أنتيجينات HLA وبالتالي في تصنيف الأفراد إلى مجموعات نسيجية يقدر عددها بأكثر من ٦ مجموعات كما يلي: DW1, DW2,..., DW6,... etc . وفيما يلي أهم طرق التصنيف الليمفاوي للأنسجة:

أـ تصنيف الخـلايـا الليمفاوية المتجانسة (Homozygous typing Cell) :ـ

تستخدم في هذا التصنيف خلايا ليمفاوية تتميز بتجانس العوامل الوراثية الخاصة بأنتيجينات HLA لإثارة الخلايا المستقبلة. يشير عدم حدوث أي تفاعل مناعي عند زراعة خليط الخلايا الليمفاوية إلى تطابق أنتيجينات الخلايا الليمفاوية المستقبلة والتي تخص العينة مع أنتيجينات الخلايا الليمفاوية المتجانسة.

ب ـ تصنيف الخلايا الليمفاوية المنشطة

(Primed Lymphocyte Typing= PLT) :ـ تستخــدم الخــلايا الليمفــاوية المنشطة بدل الخلايا الليمفاوية المتجانسة في إثارة الخلايا المستقبلة التي تخص العينـة. يزيد تأثير الخـلايا الليمفاوية المنبهة إذا تكررت إثارتها بنفس النوع من الخـلايا. تحضـر الخـلايا الليمفـاوية المنشـطة من الخلايا الليمفاوية المتجانسة بحضنها مع خلايا ليمفاوية تحمل الأنتيجين لمدة ٩-١٤ يوماً.

تبـدأ الخـلايا المنبهـة والخـلايا المستقبلة بالتفـاعـل في بداية فترة الحضانة (٤٨-٧٢ ساعـة) حيث يستبعـد استيعـاب الثـايمدين المشع بالرغم من استقلاب الجلوكوز والانسولين وترانسفيرين الخلايا المستقبلة خلال عدة ساعات من ابتداء الحضانة. يبدأ انقسام الخلايا بعد مرحلة هدوء أولية وتزيد السرعة تدريجياً حتى

تصل إلى أعلى مستوياتها في اليوم السادس إلى الثامن من الزراعة. يتناسب الوقت اللازم للوصول إلى اعلى انقسام عكسياً مع درجة تنشيط الخلايا المنبهة. تظهر الخلايا الليمفاوية البدائية الكبيرة ويتناسب عددها طردياً مع مدى استيعاب الثايمدين.

الفصل السادس

ـ النشاطات الفنية والإدارية لبنك الدم

نشاط بنك الدم

يعتمد حجم ونشاط بنك الدم على حجم الفئة المستهدفة بخدماته الصحية. لذا قد يكون محدود النشاط وجزءاً من المختبر إذا كانت الفئة المستهدفة صغيرة نسبياً مثل مرضى مستشفى أو مركز صحي كما قد يكون مؤسسة صحية مستقلة إذا كانت الفئة المستهدفة كبيرة وواسعة الانتشار مثل بنوك الدم الأقليمية والمركزية.

يشترط أن يتوفر في بنوك الدم المستقلة الأقسام التالية:ـ

١ـ الإدارة.
٢ـ المختبر.
٣ـ عيادة الطبيب.
٤ـ غرفة أو أكثر لسحب الدم.
٥ـ قسم فصل مكونات الدم.
٦ـ قسم حفظ الدم ومكوناته.

تنحصر نشاطات بنك الدم في مجالين أساسيين هما:ـ

١ـ **النشـاط الإداري**:ـ يتمثل النشاط الإداري بتوفير أكبر عدد من المتبرعين عن طريق تنفيذ برامج التوعية الفردية والجماهيرية بأهمية التبرع بالدم وعن طريق وضع حوافز شخصية تشجع على التبرع بالدم وحفظ السجلات الخاصة.

٢ـ **النشاط الفني**:ـ يتمثل النشاط الفني بسحب الدم من المتبرعين وحفظه ومطابقته مع دم المريض المناسب.

تتم عملية سحب الدم من المتبرعين ونقله للمريض لتحقيق الأهداف التالية منفردة أو مجتمعة:ـ

١ـ تعويض حجمي عما فقده جسم المريض بسبب نزف دمه بزيادة حجم البلازما.
٢ـ زيادة قدرة الدم على نقل وتبادل غازات الأكسجين وثاني أكسيد الكربون بزيادة عدد الخلايا الحمراء.
٣ـ زيادة قدرة الجسم على ارقاء الدم برفع كفاية الصفائح الدموية وعوامل التجلط.
٤ـ زيادة قدرة الجسم على المقاومة بتدعيم عوامل المناعة وزيادة عدد الخلايا البيضاء.

كما يسحب الدم ممن يعانون من احمرار الدم أو عند استبداله لأجل تنقيته من السموم والأجسام المضادة المتراكمة في بعض الحالات المرضية.

النشاط الإداري لبنك الدم

يحتاج العمل في بنك الدم إلى تسخير عدد من الخبرات المخبرية والطبية والإدارية. يوفر بنك الدم للمرضى خدمات علاجية ودوائية إذ يسحب الدم من بعض المرضى وينقل للبعض الآخر في عدد من الحالات المرضية التي يصعب علاجها بالأدوية. لذا يجب أن يكون العاملون في بنك الدم ملمين بشكل كامل بالحالات المرضية التي تعالج بسحب الدم أو نقله والمضاعفات المحتملة لذلك.

يتميز استقبال الطبيب لتقارير بنك الدم بثقة مطلقة ويتعذر عليه إثارة أي شك حول التقرير قبل تعرض المريض للمضاعفات علماً أنه قادر في معظم الحالات على إثارة الشك في التقارير المخبرية الأخرى قبل اعتمادها بناء على المعطيات السريرية للمريض. لذا يجب التأكد من توفر الخبرة الفنية العالية في العاملين في بنك الدم إلى جانب الصبر وسعة الصدر كي يتمكنوا من التعامل مع المرضى والمتبرعين.

تعهد إدارة بنك الدم في أي مستشفى لمدير المختبر ما لم تستدعي الحاجة تعيين مدير مستقل. يجب أن يلم المدير والعاملون في بنك الدم بآلية سحب الدم من المتبرعين وحفظه وصرفه للمرضى والإجراءات الفنية اللازمة. لذا يعمل مدير بنك الدم على تحقيق ما يلي:ـ

١ـ توفير حاجة الفئة المستهدفة من الدم والتي تتمثل بسكان المنطقة. وذلك بتوفير احتياطي من المتبرعين لمختلف المجموعات الدموية وخاصة النادرة.

يتطلب تحقيق الأمر السابق تنفيذ عدد من برامج التوعية الفردية والجماهيرية بأهمية التبرع بالدم لعدم توفر البديل في المستقبل المنظور. لذا يجب التعاون مع المؤسسات التربوية لتوعية الطلبة بأهمية التبرع بالدم والمؤسسات الإعلامية لتوعية الجماهير العريضة بذلك. كما يجب توفير الإمكانيات المادية والفنية اللازمة لفصل مكونات الدم والتعامل معها كي يستفيد أكبر عدد ممكن من أفراد الفئة المستهدفة من كميات الدم المتوفرة.

٢- التأكد من صلاحية المواد والأدوات المستخدمة في تنفيذ النشاطات الفنية.

يتطلب تحقيق هذا الأمر اختيار المواد والأدوات ذات الجودة العالية والتأكد من سلامة استخدامها وتوفير الصيانة اللازمة لها. كما يتطلب اعتماد التجارب الفنية القياسية التي يتوفر فيها أعلى مستويات الدقة والضبط.

٣- التأكد من كفاءة العاملين في بنك الدم وسلامة أدائهم وخاصة خلال المناوبات بعد الدوام الرسمي وذلك بمراجعة السجلات بشكل دوري.

٤- التأكد من تدوين جميع نشاطات بنك الدم في سجلات دقيقة ومنظمة يمكن الرجوع إليها والاعتماد عليها عند الحاجة. وفيما يلي أهم سجلات بنك الدم.

أ- سجل المتبرعين (Donor Records) :- يدون في هذا السجل اسماء المتبرعين وعناوينهم ومجموعاتهم الدموية ABO و Rh-Hr وتاريخهم الصحي وعدد مرات تبرعهم بالدم وتاريخها ونتائج فحوصاتهم المخبرية.

ب- سجل صرف الدم:- وهو خاص بالدم المصروف للمرضى حيث يجب تدوين الرقم المتسلسل للمتبرع بوحدة الدم ومجموعتها الدموية واسم المريض ومجموعته الدموية ومكان اقامته وتشخيصه وطريقة الموافقة ونتائجها. كما يجب تدوين تاريخ وساعة صرف الدم والمضاعفات عند حدوثها ونتائج التقصي عن اسبابها.

جـ- سجل المجموعات الدموية:- وهو خاص باسماء جميع الأفراد الذين تم الكشف عن مجموعاتهم الدموية وعناوينهم من غير المرضى والمتبرعين.

د- سجل الفحوص المخبرية الخاصة بالمتبرعين مع إيضاح نتائجها وعناوين الذين يعانون من التهاب الكبد الفيروسي أو أي التهاب وبائي آخر يمنع التبرع بالدم.

هـ- سجل بوحدات الدم المجزأة إلى مكوناتها مع إيضاح تاريخ سحبها والرقم

المتسلسل للمتبرع ومجموعته الدموية وظروف حفظها.

و- سجل خاص بوحدات الدم غير المستفاد منها مع إيضاح الأسباب والرقم المتسلسل للمتبرع ومجموعته الدموية وتاريخ السحب والإتلاف.

الفصل السابع

ـ التبرع بالدم (Blood Donation)

شروط التبرع بالدم

يجب أن يكون المتبرع لائقاً صحياً للتبرع بدمه وذلك لوقايته من أية مضاعفات قد يتعرض لها. وبناء على ذلك يفترض أن تتوفر فيه الشروط التالية:ـ

١ـ أن يكون عمره ما بين ١٧ـ٦٠ سنة.

٢ـ أن يزيد وزنه عن ٥٠ كغم وطوله عن ١٥٠سم.

٣ـ أن يكون نبضه وضغط دمه ودرجة حرارته طبيعية.

٤ـ أن لا يقل تركيز الهيموجلوبين عن ١٣,٥غم/دل عند الذكور وعن ١٢,٥غم/دل عند الإناث. كما يجب أن لا يقل الهيماتوكريت عن ٤١٪ عند الذكور وعن ٣٨٪ عند الإناث. يمكن استخدام محاليل كبريتات النحاس لاستبعاد نقص تركيز الهيموجلوبين عند المتبرعين الذكور والإناث في حالة عدم توفر الإمكانيات الفنية. يجب أن تزيد الكثافة النوعية لدم الذكور عن ١,٠٥٥ وهذا يتناسب مع ١٣,٥ غم/دل. يشير رسوب نقطة دم الوريد في محلول كبريتات النحاس خلال ١٥ ثانية إلى أن الكثافة النوعية للدم أعلى من الكثافة النوعية للمحلول الذي يجب استبداله بعد إضافة ١٥ نقطة دم لكل ٢٠ ملل. كما يجب إقفال حاوية المحلول عند عدم استخدامه لمنع تبخره للمحافظة على كثافة النوعية.

٥ـ أن يكون خالياً من الالتهابات الجرثومية والفيروسية المعدية والوبائية. وخاصة ما يلي:ـ

- الزهري الذي يستبعد من المتبرع بتجربة VDRL أو تجربة Khan .
- السل بالكشف عن جرثومة السل (T.B) في عينات البصاق.
- الحمى الروماتيزمية بتجربة Latex .
- التهاب الكبد الفيروس:ـ يتم الكشف عن HBs-Virus (Australian Ag) .
- نقص المناعة المكتسبة AIDS يتم الكشف فيروس IDV أو HTL-VII .

يمكن الشكف عن التهـاب الكبد الفيروسي ونقص المناعة المكتسبة بتجربة Microelesa التي تعتمـد على التفـاعلات المصلية ونشاط الأنزيمات فيما يعرف بعملية الساندويش. يوضع الشكل رقم (١٣) البيانات التي توفرها بطاقة المتبرع. حيث تمثل (أ) وجه البطاقة و (ب) ظهرها.

بناء على ما تقدم يمكن ايجاز موانع التبرع بالدم بما يلي :-

١- يمنع بشكل دائم من التبرع بالدم من سبق وأصيب بالتهاب الكبد الفيروسي ونقص المناعة المكتسبة (AIDS) واليرقان غير المعروفة أسبابه والأورام السرطانية وسرطان الدم والذين يعانون من الصرع والتشنجات وإمكانية النزف وإيجابية تجربة Microelesa وأمراض القلب والرثاث.

٢- يمنع بشكل مؤقت من التبرع بالدم الأشخاص الذين يعانون من بعض الحالات المـرضية التي يلزمها العلاج أو الراحة مثل الرشح والانفلونزا والسكري والسل والسيفلس والألتهابات الأخرى.

٣- يمنع لمدة ثلاث سنوات من التبرع بالدم أي شخص بعد انتقاله من المناطق الموبوءة بالملاريا إلى المناطق الخالية منها وتوقفه عن تناول العلاج بشكل وقائي.

٤- تمنع الحامل من التبرع بالدم أثناء الحمل ولمدة ٧ شهور بعد الولادة أو انتهاء الحمل.

٥- يمنع المخالطين للمصابين بالتهاب الكبد الفيروسي من التبرع بالدم وحتى ستة شهور من انتهاء المخالطة.

٦- يمنع التبرع بالدم لمدة ٦ شهور أيضاً من التبرع بالدم كل من أخذ الدم أو بعض مكوناته الأساسية ومن أُجريت له عملية جراحية أساسية أو من سافر خلال مناطق موبؤة.

٧- يمنـع التبـرع بالـدم لمدة شهرين من أخذَ لُقاح German Measeles ولمدة أسبوعين من أخذَ لُقاح بعض الأمراض الفيروسية مثل yellow fever, mumps, measles, Smallpoox . . . الخ .

المملكة الأردنية الهاشمية
وزارة الصحة
بنك الدم

بسم الله الرحمن الرحيم

بطاقة المتبرع

الرقم المتسلسل .... التاريخ ....
الاسم ________________ السن ________________
العنوان .... المهنة ....
الهاتف ________________ تاريخ آخر تبرع ________________

التاريخ المرضي

- ☐ فقر الدم ☐ اليرقان ☐ ضيق تنفس
- ☐ السكري ☐ الحساسية ☐ نوبة (تشنجات)
- ☐ الملاريا ☐ السعال المزمن ☐ التهابات حالية بأمراض معدية ______
- ☐ السفلس ☐ بصاق دموي ☐ أمراض حالية ______ أدوية مستعملة ______

الفحص السريري

الحالة العامة ________________ النبض ________________
الوزن ________________ الأوردة ________________
الجهاز التنفسي ________________ الجهاز الهضمي ________________
القلب والأوعية الدموية .... الكبد والطحال ________________
الضغط ________________

الفحص المخبري

الهيموجلوبين غم ٪ ________________
الهيموتوكريت ________________
اليرقان المصلي ________________
السفلس ________________
الملاريا ________________
فحوصات أخرى ________________

الزمرة الدموية		
الطراز الجيني		
D	c	
C	e	
E		

التوقيع ________________

أ

التبرع

العدد	التاريخ	توقيع الفني	الكمية

ب

شكل رقم (١٣ أ وَ ب)

٨- يمنع التبرع بالدم لمدة ٧٢ ساعة من قلع سنه أو أجريت له جراحة صغرى ولمدة ٤٨ ساعة لمن تبرع بالبلازما. كما يجب عدم التبرع بالصفائح الدموية لمدة ٤٨ ساعة من تناول الأسبرين.

٩- يراعى تجنب التبرع بالدم لمدة ٢٢ ساعة من قبل من تناول الكحول أو الوجبات الغذائية الدهنية.

سحب الدم من المتبرعين

يعهد بعملية سحب الدم من المتبرعين إلى فنيين متمرسين بحيث يراعوا الأمور التالية :-

١- التأكد من اسم المتبرع وعمره وجنسه ومجموعته الدموية.
٢- التأكد من اللياقة الصحية للمتبرع بالاطلاع على وجهة نظر الطبيب الذي كشف عليه.
٣- توفير الراحة البدنية والنفسية الكاملة للمتبرع وتجنب مضايقته قدر الإمكان. لذا يستلقي المتبرع على ظهره في سرير مريح في مكان هادىء جيد الإضاءة.
٤- التأكد من توفر ضرورات التعقيم أثناء سحب الدم والتعامل معه لتجنب التلوث الجرثومي.
٥- كتابة الرقم المتسلسل للمتبرع ومجموعته الدموية وتاريخ سحب الدم كما هو مدون في سجل المتبرعين قبل سحب الدم على حقيبة الدم وعلى عينة دم المتبرع التي تسمى Pilot Sample ولا تزيد عن ٣٠ ملل وتستخدم للتجارب المخبرية.

يوضح الشكل رقم (١٤) صورة ملصق يحمل كافة المعلومات الخاصة بالمتبرع ومكونة من جزئين يثبت أحدهما في ملف المريض ويثبت الآخر على وحدة الدم. تتميز هذه الملصقات بألوان خاصة بكل مجموعة دموية كما يلي :-

أصفر- A وأخضر- B وأزرق- AB وأحمر- O . كما يشير اللون الداكن إلى Rh + ve (أ) واللون الباهت إلى Rh-ve (ب).

رقم الوحدة

الكمية

التاريخ

تلصق على ملف المريض

الفصيلة

A RH +

وزارة الصحة ـ بنك الدم

الرقم.......... تاريخ السحب..........

اسم المريض..........

المستشفى..........

تاريخ الفحص..........

نتيجة الفحص..........

نتيجة فحص اليرقان المصلي

توقيع الفاحص

نتيجة فحص VDRL

A RH + Pos.
Genotype
Du
C
E
c
e

المملكة الأردنية الهاشمية

لا يستعمل الدم بعد ٢١ يوم من تاريخ السحب

أ

رقم الوحدة

الكمية

التاريخ

تلصق على ملف المريض

الفصيلة ...

A RH −

وزارة الصحة ـ بنك الدم

الرقم.......... تاريخ السحب..........

اسم المريض..........

المستشفى..........

تاريخ الفحص..........

نتيجة الفحص..........

نتيجة فحص اليرقان المصلي

توقيع الفاحص

نتيجة فحص VDRL

A RH − Neg.
Genotype
Du
C
E
c
e

المملكة الأردنية الهاشمية

لا يستعمل الدم بعد ٢١ يوم من تاريخ السحب

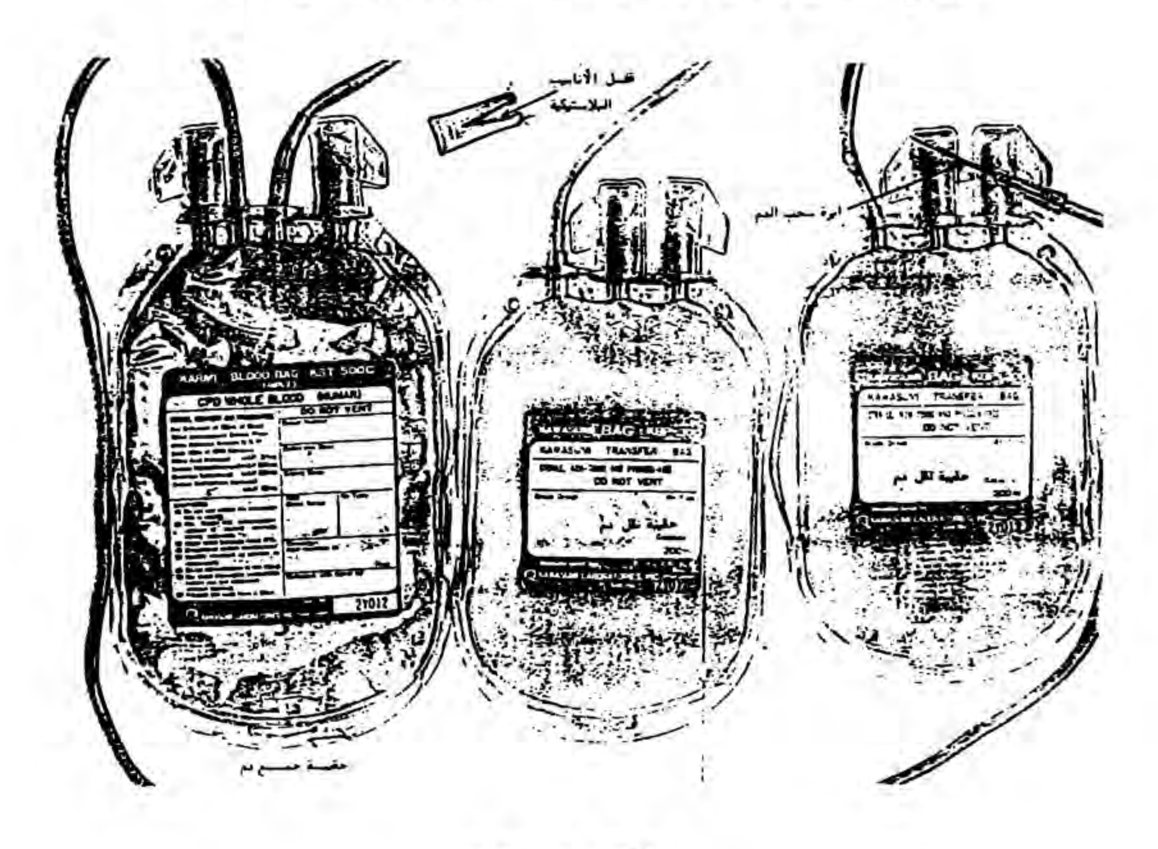
ب

شكل رقم (١٤ أ و ب)

٦ـ تجنب احداث الاختراق الوريدي في مواقع تليف الجلد أو تقرحه والبحث عن أثار الإبر في ذراع المتبرع لاستبعاد مدمني المخدرات.

٧ـ اختيار حقيبة جمع الدم بناء على الغاية من سحب الدم. لذا تستخدم الحقائب الفردية عندما يكون المطلوب جمع الدم كاملاً والحقائب الثلاثية عندما يكون المطلوب فصل الصفائح الدموية أو الراسب البارد والحقائب الرباعية عندما يكون المطلوب فصل الصفائح الدموية والراسب البارد من نفس وحدة الدم.

يوضح الشكل رقم (١٥) حقيبة ثلاثية لجمع الدم وفصل مكوناته.



شكل رقم (١٥)

٨ـ التأكد من صلاحية كل حقيبة وصلاحية مانع التجلط والمواد الحافظة داخلها.

يمكن استخدام المواد التالية لمنع تجلط الدم وحفظه في الحقائب:ـ

أـ اليهبارين (Heparin) :ـ يضاف اليهبارين بنسبة ٦٠ ملل من محلوله الذي تركيزه ٧٥٠٠ و.د/لتر (محلول ملحي) لكل ١٠٠ ميليلتر من الدم. يجب استخدام

الدم المجموع على هيبارين خلال ٤٨ ساعة من جمعه ويفضل قبل مرور ٢٤ ساعة لأن الهيبارين من مميعات الدم وليس من المواد الحافظة له. يتميز الدم المجموع على هيبارين بقصر عمره (٢٤-٤٨ ساعة) وزيادة تركيز الأحماض الدهنية بسبب قدرته على تنشيط أنزيم لايبيز الشحوم البروتينية. تنافس الأحماض الدهنية البيليروبين على الارتباط بالالبومين. يجمع دم المتبرع على الهيبارين عند الحاجة للتخلص من الخلايا البيضاء بالترشيح وفي حالة استبدال الدم أو جراحة القلب المفتوح.

ب ـ ملحول Acid Citrate Dextrose (ACD) :ـ يضاف محلول ACD بمعدل ١٥ ملل/دل دم. يحتوي اللتر الواحد من ACD على ما يلي :ـ

سترات الصوديوم	٢٢,٠ غم
حامض السيتريك	٠٨,٠ غم
ديكستروز	٢٤,٥ غم

يعتبر ACD أول المحاليل المستخدمة (١٩٤٣) في حفظ الدم. تعمل أيونات السترات على منع تجلط الدم عن طريق الاتحاد مع الكالسيوم ومحلول منظم السترات على تنظيم pH المحلول بحدود ٥,٠. في حين يوفر الديكستروز الطاقة اللازمة. يقدر pH الدم ومحلول السترات في درجة حرارة الغرفة بحوالي ٧,١ وبدرجة حرارة ٤٠م بحوالي ٧,٤.

جـ ـ محلول ((Citrate. Phasphate. Dexrose (CPD)) :ـ يضاف محلول CPD إلى حقائب جمع الدم بدل ACD بنسبة ١٤ ملل/دل دم. يحتوي اللتر الواحد من محلول CPD على ما يلي :ـ

سترات الصوديوم	٢٦,٣ غم
حامض السيتريك	٠٣,٢٧ غم
ديكستروز	٢٥,٥ غم
فسفات الصوديوم (NaH_2PO_4)	٢,٢٢ غم

تساهم أيونات الفسفات في توفير فسفات الأدينوسين الضرورية لنشاط الخلايا

الحمراء. يزيد pH محلول CPD عن pH محلول ACD ويقدر بحوالي ٥,٥ و pH محلوله مع الدم في ٤ م بحوالي ٧،٥. لذا يحافظ محلول CPD على ثنائي فسفات الجليسرول (2,3. DPG) لمدة أسبوع دون انخفاض pH الدم.

د ـ محلول Citrate - phosphate - Dextrose - Adenosine (CPDA-1) :ـ

تزيد صلاحية الدم حتى ٣٥ يوماً من جمعه إذا أُضيف الأدينين إلى محلول CPD بمعدل ٠,٠٢٥ مليمول/اللتر لأن الأدينين ضروري لتكوين جزيئات ATP . يحتوي اللتر الواحد من محلول CPDA-1 على ٠,٢٧٥ غم من الأدينين. يحافظ CPDA-1 على مستوى 2,3- DPG كما يفعل CPD .

٩ـ يسحب حوالي ٤٥٠ ± ٤٥ ملل من الدم على كل ٦٣ ملل من مانع تجلط CPD أو CPDA-1 أو ما يعادل ٤٢٥ـ٥٢٠ غم من دم المتبرع الذي يزيد وزنه عن ٥٠ كغم. يجب وضع عينة من دم المتبرع تقل عن ٣٠ ملل بعد مزجه بمانع التجلط في أنبـوبـة تحفظ بمرافقة حقيبة الدم وتحمل هويتها وتستخدم لاجراء التجارب المخبـرية الـلازمة للتأكد من توافق دم المتبرع مع دم المريض ولاستبعاد الأمراض الوبائية من دم المتبرع. تسمى هذه العينة بالرائدة (Pilot Sample) . تقفل أنبوبة سحب الـدم المملوءة بدم المتبـرع بعد مزجه مع مانع التجلط في عدة مواقع وتستخـدم محتـويات كل جزء منهـا بدل العينـة الرائدة. يمزج دم المتبرع مع محتويات الحقيبة من موانع التجلط إما باليد أو بواسطة هزاز كهربائي.

١٠ـ يعـوّض المتبرع حجم ما فقده من الدم بالعصير أو أي شراب آخر ويعطى بعض الأدوية التي تساعد الأنسجة المنتجة للخلايا الحمراء على تعويض ما تم التبرع به.

مضاعفات التبرع بالدم
(Blood Donor's Reactions)

يجب تجنب مضـاعفـات سحب الدم من المتبرعين بتوفير الظروف المناسبة لراحتهم البدنية والنفسية ومنع انفعالهم وخاصة عندما يكون أول تبرع لهم بالدم أو كانوا صغار الجسم أو السن. وفي ما يلي أهم مضاعفات سحب الدم من المتبرعين:ـ

١ـ تباطؤ دقات القلب والغثيان بسبب نقص الدم المتوفر في الدماغ.يمكن التغلب على مثل هذه المضاعفات بتوفير الراحة التامة والهدوء للمتبرع بعد استلقائه على ظهره ورفع قدميه وخفض رأسه عن مستوى قدميه ووضع كمادات ماء بارد على جبهته. وقد يُعطى المتبرع بعض السوائل إذا لم يتقيأ. يُستدعى الطبيب إذا لم يستعيد المتبرع وعيه خلال نصف ساعة من الإغماء.

٢ـ قد يُصاب النظام العصبي المركزي بالخمول مع تباطؤ دقات القلب وبعض التشنجات بسبب نقص دم الدماغ. لذا يستلقي المتبرع على ظهره بحيث ينخفض مستوى رأسه عن مستوى قدميه وتوضع قطعة من الشاش بين أسنانه لتجنب إيذاء نفسه.يتم الحفاظ على ممر الهواء سالكاً باستخدام خافض لسان.

٣ـ كما قد يصاب بعض المتبرعين القلقين بتصلب عضلات الأطراف بسبب زيادة التهوية في غرفة سحب الدم.لذا يوضع قناع ورقي على أنف المتبرع لاقلال الهواء.

٤ـ قد تكون مضاعفات سحب الدم شديدة وحادة في بعض الحالات النادرة كتوقف القلب أو اضطراب الجهاز التنفسي. لذا يجب أن يلم العاملون في بنك الدم بوسائل الأسعاف الأولي اللازمة لانعاش المتبرع وخاصة تدليك القلب والتنفس الصناعي.

٥ـ كما قد يتعرض بعض المتبرعين للنزيف تحت الجلد (Hematoma) بسبب خروج الإبرة من الوريد.لذا ترفع يد المتبرع في هذه الحالة إلى أعلى ويضغط موقع النزيف تحت الجلد بكمادات ماء بارد.

الفصل الثامن

ـ حفظ الدم وفصل مكوناته ومبادىء التعامل معها

حفظ الدم

(Blood Storage)

يحفظ الدم المسحوب من المتبرعين بدرجات حرارة منخفضة حيث تتباطأ أو تتوقف جميع النشاطات الحيوية بشكل عام والتمثيل الكيميائي للجلوكوز بشكل خاص مما يساهم في الحفاظ على حيوية الخلايا الدموية ومنع نمو أي تلوث جرثومي محتمل. لذا يحفظ الدم بدرجة ١-٦م ويتم نقله من مكان لآخر محاطاً بالثلج بدرجة ١-١٠م وبحذر شديد. في حين تحفظ البلازما ومكوناتها المجمدة بدرجة -٣٠م أما الخلايا الحمراء فتحفظ مجمدة بدرجات حرارة تتراوح بين ٦٥-١٩٦م تحت الصفر. تتضاءل بشكل كبير عمليات التمثيل الكيميائي للجلوكوز بدرجة ١-٦م وتتوقف عملياً بدرجة ٦٥-٨٥م تحت الصفر وتنعدم تماماً بدرجة ١٥٠-١٩٦م تحت الصفر. يمكن حفظ الدم لمدة ثلاثة إلى أربعة أسابيع في درجة ٤-٦م في ثلاجات خاصة تتميز عن الثلاجات العادية بما يلي:-

١- تبقى درجة حرارتها ثابتة بين ٣م - ٧م.

٢- أن لا يزيد الفرق في درجات الحرارة بين أي نقطتين في الثلاجة عن درجتين مئويتين.

٣- يجب أن لا تقل المسافة بين أنابيب التبريد وأقرب وحدة دم عن ٣ إنشات.

٤- أن يتوفر نظام انذار صوتي وضوئي للدلالة على تجاوز درجة حرارة الثلاجة ٨م.

٥- وجود ميزان حرارة يشير إلى أعلى وأدنى درجة حرارة في الثلاجة خلال ٢٤ ساعة.

٦- يجب عدم استخدام ثلاجة بنك الدم لغير ما صممت له.

تترسب الخلايا الدموية الحمراء بشكل تدريجي عندما يحفظ الدم في الثلاجة بدون خضه حتى تنفصل الخلايا الحمراء عن البلازما بشكل واضح ومميز بعد ٤٨ ساعة. تظهر البلازما الطبيعية صافية بلون التبن الجاف أو حليبية أحياناً. كما تظهر الخلايا الحمراء حمراء غامقة اللون. يجب الكشف المباشر يومياً على وحدات الدم مع تجنب خضها لملاحظة أي اختلاف في طبيعة البلازما أو الخلايا الحمراء. يجب اتلاف أي وحدة دم وتجنب صرفها لأي مريض إذا لوحظ وجود طبقة حمراء في البلازما بجوار سطح الخلايا الحمراء بسبب تحللها أو أي تعكير في البلازما أو أي لون بنفسجي في الخلايا الحمراء بسبب نمو التلوث الجرثومي.

من المناسب زراعة وحدات الدم غير المستعملة جرثومياً بعد انتهاء صلاحيتها للتأكد من فعالية اجراءات التعقيم. من الممكن تسرب بعض الجراثيم لوحدات الدم بالـرغم من كثرة الاحتياطات المتخذة أثناء سحب الدم من المتبرعين. يمنع نمو أي تلوث جرثومي محتمل بحفظ الدم بدرجات الحرارة المنخفضة وبسبب طبيعة الدم المقاومة لنمو الجراثيم. لذا يجب عدم إخراج وحدة الدم من الثلاجة إلا قبل الحاجة إليه مباشرة وعدم صرف الدم إذا ترك خارج الثلاجة لمدة ساعة لأي مريض إلّا في الظروف القاهرة حتى ولو بقيت وحدة الدم مقفلة. لذا يجب عدم رفع درجة حرارة الدم إلى درجة حرارة الجسم قبل نقله للمريض بتركه خارج الثلاجة وذلك لتجنب تكاثر ما يمكن أن يتسرب من الجراثيم وبالتالي منع انتشارها في وحدة الدم وانتقالها إلى دم المريض. كما يجب اتلاف جميع وحدات الدم التي صرفت وتم فتحها خارج بنك الدم.

فصل مكونات الدم
(Hemopheresis)

تفصل مكونات الدم عن بعضها كي يستفيد أكبر عدد ممكن من المرضى من وحدات الدم المأخوذة من المتبرعين ولوقاية المرضى من أية مضاعفات قد يتعرضوا لها بسبب حصولهم على مكونات الدم التي لا يحتاجونها. كما أن فصل مكونات الدم تسمح للمتبرع بإعطاء بعض مكونات دمه والاحتفاظ ببعضها. تفصل مكونات الـدم عن بعضهـا بالاستعانة بحقائب حفظ الدم متعددة الحجرات وأجهزة الطرد المركزي أو بالترشيح من خلال مصافي من النيلون.

(١) فصل البلازما (Plasma pheresis) :ـ تفصل البلازما عن الخلايا الدموية لتنقل طازجة للمريض أو لفصل مكوناتها مثل الألبومين والجلوبولين (٪) أو عامل التجلط رقم VIII . يسحب الدم في حقائب بلاستيكية وتفصل البلازما عن الخلايا الحمـراء ميكانيكياً بتعريض الدم المسحوب لقوة طرد مركزي مقدارها ٥٠٠ج / د ولمدة ٥ دقائق.

تحسب القـوة النسبية للطرد المركزي Relativc Centerifugal Force بتطبيق المعادلة التالية.

$$RCF = 0.0000118 \times N^2 \times r$$

حيث N سرعـة الـدوران / الـدقيقة و r نصف قطر المدار. تنقل البلازما إلى

الحجـرة المجـاورة ميكانيكياً بواسطة مكبس خاص ومن ثم تفصل حجرة الخلايا الحمراء عن حجرة البلازما. تعطى الخلايا الحمراء لمريض آخر أو تعاد للمتبرع مباشرة عن طريق نفس الوريد الذي يحافظ عليه مشغولاً بالمحلول الملحي. يجب أن يتأكد المتبرع من هوية خلاياه الحمراء قبل استعادتها عن طريق تعرفه على توقيعه على وحدة دمه. يجب أن يتوفر في متبرع البلازما نفس شروط المتبرع بالدم من حيث السن والـوزن وضغط الدم وتركيز الهيموجلوبين وخلوه من أية أمراض تمنع تبـرعـه بالإضـافـة إلى زيادة تركيز بروتينـات البـلازما عن ٦ غم/دل. يعاد الفحص الطبي على المتبرعين الدائمين للبلازما كل أربعة شهور للتأكد من لياقتهم الصحية وتركيز بروتين البلازما وخاصة جاما جلوبولين. لا تسحب البلازما من أي متبرع لا يستوفي الشروط السابقة إلاّ إذا كان لطبيعة البلازما المسحوبة أهمية خاصة بعد الحصول على موافقة الطبيب الخطية. كما يجب أن يقر المتبرع خطياً بموافقته على التبرع بالرغم من علمه بما قد يترتب على تبرعه من مضاعفات.

أهمية التبرع بالبلازما:-

يُستخـدم التبرع بالبلازما كعلاج لبعض الحالات المرضية كزيادة حجم الدم بالنسبـة للأوعية الـدمـوية (Circulatory Overload) وارتفـاع ضغط الدم أو تركيز الجلوبولين (Macroglobulinemia) أو استبدال البلازما للتخلص من بعض المواد السامة.

كمـا تعـطي البلازما لبعض الحالات المرضية كالحروق والصدمات والنزيف لتعويض حجم الدم أو بعض مكونات البلازما كالجاما جلوبولين والالبومين وبعض عوامـل التجلط كالفيبـريـنـوجين والعـامل المضاد للناعور (Factor VIII) . تصنف البلازما الموجودة في بنك الدم بناء على ظروف حفظها واستخدامها كما يلي:-

١- البـلازمـا الـطازجة المجمدة (Fresh Frozen Plasma= FFP) :- وهي أفضل أنواع البلازما لأنها تحتفظ بكفاءة مكوناتها لفترة زمنية طويلة مع استبعاد تلوثها بالتهاب الكبد الفيروسي. لذا تستخدم لتعويض حجم الدم وعوامل تجلطه وزيادة عوامل المناعة. يتم جمع وحفظ البلازما الطازجة المجمدة كما يلي:-

١- البـلازمـا الطازجة المجمدة Fresh Frozen Plasma = FFP :- وهي أفضل أنواع البلازما لأنها تحتفظ بكفاءة مكوناتها لفترة زمنية طويلة مع استبعاد تلوثها

بالتهاب الكبد الفيروسي. لذا تستخدم لتعويض حجم الدم وعوامل تجلطه وزيادة عوامل المناعة. يتم جمع وحفظ البلازما الطازجة المجمدة كما يلي:-

تجمد البلازما الطازجة بعد فصلها عن الخلايا الحمراء بشكل سريع بدرجة ٧٠م تحت الصفر. تستغرق عملية سحب الدم وفصل البلازما وتجميدها حوالي ٢-٤ ساعات فقط. تحفظ البلازما الطازجة المجمدة بدرجة ٣٠م تحت الصفر حتى الحاجة إليها وخلال ما لا يقل عن ١٢ شهر . تميع البلازما المجمدة قبل استعمالها بوضعها في حمام مائي بدرجة ٣٧م بعد وضعها في كيس بلاستيكي خارجي معقم لمنع تسرب ماء الحمام عند تصدع كيس البلازما المجمدة. تعطى البلازما المجمدة للمريض بعد تميعها مباشرة. تتميز البلازما الطازجة المجمدة عن البلازما الطازجة المجففة (Lypholized Plasma) التي تباع في الأسواق بأنها تجمع من متبرع واحد وليست مجمعة من عدة أشخاص. لذا تقل إمكانية تعرض المريض الذي يتعاطاها لالتهاب الكبد الفيروسي ونقص المناعة.

٢- بلازما بنك الدم (Blood Bank Plasma) :- تحفظ البلازما في ثلاجة بنك الدم (٤-٦م) عند عدم توفر امكانيات تجميدها بعد فصلها عن الخلايا الحمراء وتسمى بلازما بنك الدم وتستخدم خلال شهر ونصف لتعويض حجم الدم فقط ولا تصلح لتدعيم عوامل المناعة أو عوامل التجلط بسبب تلاشيها.

تجزأ البلازما إلى مكوناتها لعلاج أكبر عدد ممكن من المرضى. وفي ما يلي أهم مكونات البلازما الطازجة التي يمكن فصلها:-

أ- بروتينات البلازما أو الألبومين (Albumin or Plasma Protein) :- تستخدم بروتينات البلازما أو الألبومين لتعويض حجم الدم. يفصل الألبومين وبقية بروتينات البلازما بالترسيب التجزئي من البلازما الطازجة بالايثانول. كما يمكن ترسيب الألبومين وبعض بروتينات البلازما من البلازما الطازجة المجمدة أو بلازما بنك الدم أو بلازما وحدات الدم غير المستعملة. يقدر تركيز الألبومين في محلوله بحوالي ٩٦٪ وفي محلول بروتينات البلازما بحوالي ٨٣٪. لا يزيد تركيز الجاما جلوبولين عن ١٪م. تتوفر مختلف بروتينات البلازما كالفيبرينوجين والجاما جلوبولين مجففة في الأسواق.

ب - الراسب البارد (Cryoprecipitate) :- يتكون الراسب البارد من مجموعة

بروتينات باردة (Cryopreoteins) ويتميز بوفرة عامل التجلـط المضاد للناعور (VIII) يفصل الراسب البارد من البلازما الطازجة المجمدة كما يلي :ـ

١ـ تميع البلازما الطازجة المجمدة (FFP) بدرجة ٤م على مدى ١٨ ساعة. وتوضع بعد تميعها في جهاز الطرد المركزي المبرد (٤ـ٦°) بقوة ٢٥٠٠ج/د ولمدة ١٥ دقيقة.

٢ـ يفصل الطافي الخالي من الراسب البارد بنقله إلى حجرة أخرى في جو معقم بالأشعة فوق البنفسجية (U.V) . يجمع الراسب البارد المفصول من خمسة وحـدات في وحـدة واحدة مع حوالي ١٥ ملل من البلازما من كل وحدة ويجمد ويحفظ بدرجة ٣٠ تحت الصفر. تزيد فعالية الراسب البارد بوجود البلورات الثلجية. يختلف تركيز العـامـل الثامن المضاد للناعور في الراسب البارد باختلاف مصدره ويجب أن لا يقل عن ١٠٠ وحدة. تعرف وحدة العامل رقم ٨ بأنه تركيزه في ١ ملل من البـلازما الطبيعية المجمدة. تقدر صلاحية الراسب البارد الذي يحفظ بدرجة ١٨ـ٣٠ تحت الصفر بمدة عام على الأقل. تحفظ امبولات العامل رقم ٨ المجففة (lypholized Factor VIII) في درجـة ٤ـ٢٦م لمدة غير محددة. يحتوي الراسب البارد بالاضافة إلى العامل رقم ٨ على الأجسام المضادة لأنتيجينات المجموعات الدموية A و B والتي نادراً ما تسبب بعض الصعوبات في عملية الموافقة أو الحساسية بعد تعاطي كميات كبيرة منه. يمكن تجنب مضاعفات الحساسية بتعاطي الراسب البارد المجمد والتجاري بالتناوب.

يميع الـراسب البـارد قبـل استعماله مباشرة بدرجة ٣٠ـ٣٧م ويجب أن ينقل للمريض خلال ٢٤ ساعة من اكتمال تميعه.

(٢)ـ فصل الصفائح الدموية (Platles phersis) :ـ تفصل الصفائح الدموية بوضـع وحـدة الـدم المجمعة في الحجرة الأولى من الحقيبة المتعددة الحجرات (رباعية) في جهاز الطرد المركزي لمدة ٣ دقائق وبسرعة ١٨٠٠ج/د بدرجة حرارة الغرفة. تنقل البلازما الغنية بالصفائح الدموية (Platlets Rich Plasma = PRP) إلى الحجرة المجاورة في جو معقم بالأشعة فوق البنفسجية (u.v) . تعرض البلازما الغنية بالصفائح للطرد المركزي لمدة ٢٥ دقيقة وبسرعة ٣٠٠٠ج/د لترسيب الصفائح الدموية. تنقل البلازما الخالية من الصفائح الدموية إلى الحجرة المجاورة ويعلق

راسب الصفائح الدموية بكمية من البلازما تختلف باختلاف درجة حفظ الصفائح. تحفظ الصفائح الدموية بدرجة ٢٢-٢٤م بحيث تمزج بشكل مستمر بحوالي ٣٠-٥٠ ملل من البلازما بشكل لطيف بأرجحتها من الخلف للأمام ومن الأمام للخلف وتحتفظ بـ pH أكثر من ٦ لمدة ٧٢ ساعة. يجب تجنب المزج الزائد لأنه يكتل الصفائح الدموية، كما يمكن أن تحفظ الصفائح الدموية لمدة ٤٨ ساعة بدرجة ١-٦°م بمزجها بحوالي ٣٠ ملل من البلازما. يجب رفع درجة حرارة الصفائح الدموية لدرجة حرارة الغرفة قبل استعمالها إذا كانت محفوظة بدرجة ١-٦°م. يمكن زيادة عمر الصفائح الدموية لمدة خمسة أيام بحفظها في حقائب بلاستيكية لا تحتوي على polvinyl وتسمح بتسرب ثاني أكسيد الكربون إلى الخارج مما يحافظ على pH محلول الصفائح أعلى من ٦,٥. تزيد فعالية محلول الصفائح الدموية المحفوظة بدرجة حرارة الغرفة عن فعالية محلولها المحفوظ بدرجة ١-٦°م. تحفظ الصفائح الدموية مجمدة بدرجة ٨٠-١٥٠ تحت الصفر مع ١٤,٥٪ جليسرول أو ٤-٦٪ DMSO . نظراً لتعقيدات حفظ الصفائح مجمدة وكلفته وقلة مردوده فإنه غير عملي في الوقت الحاضر.

يجب أن لا يقل عدد الصفائح الدموية في دم المتبرعين بصفائحهم عن ١٥٠٠٠٠/ملم³ وتركيز البروتين عن ٦غم٪ كما يجب عدم تناول المتبرعين للأسبرين لمدة ٤٨ ساعة قبل التبرع بالصفائح والتأكد من اللياقة الصحية للمتبرع. تجمع الصفائح من ٦-٨ وحدات في وحدة واحدة في جو معقم بالأشعة فوق البنفسجية. يجب أن لا يقل عدد الصفائح في وحدة الصفائح عن $٥,٥ \times ١٠^{١٠}$. تنقل الصفائح الدموية للمريض بعد أن يتم التأكد من موافقتها بناء على نظام ABO. يعتبر وجود الأجسام المضادة Anti-A و Anti-B بكميات كبيرة من البلازما (٣٠٠-٣٥٠ ميليلتر)، المرافقة للصفائح الدموية من مسببات تحلل الخلايا الحمراء. لذا يجب تجنب تجميع الصفائح الدموية من مختلف المجموعات الدموية في نظام ABO وإنما يجب تجميعها من مجموعة واحدة. كما يمكن مراعاة الأمور التالية عند موافقة الصفائح الدموية:-

١- يعطى مرضى المجموعات الدموية A أو AB صفائح دموية A أو AB .

٢- يمكن اعطاء الصفائح الدموية لأي مجموعة إلى المصنفين بالمجموعة الدموية (O) .

٣- كما يمكن اعطاء المصنفين بـ B صفائح أية مجموعة دموية أخرى بالرغم من افضلية اعطائهم صفائح دموية B .

٤- يعطى الأناث المصنفات Rh-ve ويقل عمرهم عن ٤٥ سنة صفائح دموية Rh-ve إذا أمكن وإلا يعطون صفائح Rh + ve ومصل AntiD. يعطى بقية المرضى الصفائح الدموية دون اعتبار للأنتيجين Rh.

(٣)- فصل الخلايا البيضاء (Leukopheresis) :-

تفصل الخلايا البيضاء من وحدات الدم لمنع تعرض الذين يعانون من وجود أجسام مضادة للخلايا البيضاء في دمهم للمضاعفات أو لتحضير محلول المحببات لنقله لمن يعاني من نقصها. تفصل الخلايا البيضله عن وحدات الدم بأي من الطرق التالية :-

أ- يمكن التخلص من ٧٠-٨٠٪ من الخلايا البيضاء الموجودة في أي وحدة دم وبالتالي تجميعها بشكل مكثف في حقائب أخرى باستخدام السنترفيوج والحقائب متعددة الحجرات. كما يلي :-

- توضع وحدة الدم في جهاز الطرد المركزي لمدة ٥ دقائق وبسرعة ٥٠٠٠ج/د بعد جمعها مباشرة لترسيب الخلايا الحمراء.
- تنقل البلازما الغنية بالخلايا البيضاء والصفائح إلى الحجرة المجاورة وتصرف الخلايا الحمراء مضافاً إليها بعض المحلول الملحي للمريض الذي يعاني من مضاعفات الأجسام المضادة للخلايا البيضاء.
- يعاد تعريض البلازما الغنية بالخلايا البيضاء لقوة طرد مركزي مقدارها ٥٠٠٠ج/د لمدة ٧ دقائق حيث تترسب الخلايا البيضاء وينقل الطافي الغني بالصفائح الدموية إلى الحجرة المجاورة. كما يمكن التخلص من حوالي ٨٠٪ من الخلايا البيضاء بفصل البلازما من وحدات الدم بعد حفظها لمدة ٢٤-٤٨ ساعة من سحبها من المتبرعين. يستخدم لهذه الغاية حقائب بلاستيكية متعددة الحجرات حيث تنقل البلازما مع سطح الخلايا الحمراء من الحجرة الأولى إلى الحجرة المجاورة. تعطى الخلايا الحمراء بعد تخفيفها بالمحلول الملحي لمن يعانون من مضاعفات الأجسام المضادة للخلايا البيضاء.

ب- كما يمكن التخلص من معظم تأثير الخلايا البيضاء والصفائح الدموية

بحفظ الخلايا الدموية مجمدة مع الجليسرول وتمييعها بالظروف المناسبة.

جـ - كما يمكن فصل الخلايا البيضاء من وحدات الدم وتجميعها على هيئة محلول بترشيحها عبر عمودين مساميين من خيوط النايلون بعد جمعها على الهيبارين. تعتمد هذه الطريقة على قدرة الخلايا البيضاء المجموعة على الهيبارين على الالتصاق بخيوط النايلون. تجمع الخلايا البيضاء من خيوط النايلون بغسلها بواسطة محلول من السيترات. يحتوي الغسول على حوالي ٩٠٪ من الخلايا البيضاء المحببة الموجودة في الدم. يجمع محلول الخلايا البيضاء المركزة ليعطى لمن يعاني من نقص الخلايا البيضاء المحببة (أقل من ٥٠٠ خلية/ملم٣) بمعدل لا يقل عن ١٠^١١ خلية بيضاء محببة يومياً لمدة لا تقل عن ٤-٥ أيام. يمكن التخلص من تأثير الهيبارين بإضافة كبريتات البروتامين إلى الدم بعد تخليصه من الخلايا البيضاء بالترشيح. يجب التأكد من التطابق في نظام ABO بين الخلايا البيضاء والمريض المطلوب نقلها إليه.

(٤) حفظ الخلايا الحمراء المجمدة:-

تحفظ الخلايا الحمراء مجمدة بمساعدة المواد المبطلة لتأثير التجمد والتميع عليها (Cryoprotective). يعتبر الجليسرول و Dimethl sulphoxide الذي يرمز له بـ DMSO من أهم المواد الحافظة للخلايا الحمراء المجمدة والتي تتميز بقدرتها على اختراق جدران الخلايا الحمراء. كما يستخدم Hydroxy Ethyl Starch الذي يرمز له بـ HES ويتميز بعدم قدرته على اختراق جدران الخلايا الحمراء لحفظ الخلايا الحمراء مجمدة.

يستخدم الجليسرول شديد التركيز (٤٠-٤٧٪) لتجميد الخلايا الحمراء بالمجمدات الكهربائية (٦٥-٨٥°م تحت الصفر). في حين يستخدم الجليسرول ضعيف التركيز (١٤-١٧٪) لتجميد الخلايا الحمراء بمجمدات النيتروجين السائل (١٥٠-١٩٦°م تحت الصفر). يجب أن تجمد الخلايا الحمراء بعد فصلها عن البلازما خلال ٦ أيام من جمعها من المتبرعين. يضاف الجليسرول بشكل تدريجي وبطيء مع مزج مستمر مما يسمح باختراق الجليسرول لجدران الخلايا الحمراء بشكل منتظم وبطيء لتجنب تحللها بسبب التغيير المفاجيء في الضغط الأسموزي داخل الخلايا الحمراء وخارجها. يكتب الرقم المتسلسل للمتبرع ومجموعته الدموية

في نظام ABO و Rh-Hr وتاريخ سحب الدم على حقيبة محلول الخلايا الحمراء والجليسرول قبل أن توضع في حقائب معدنية تحمل هوية الوحدة كما كتبت على الحقيبة قبل تجميدها. تحفظ الحقائب المعدنية الحقائب البلاستيكية المجمدة من التصدع بسبب زيادة هشاشيتها بدرجات الحرارة المنخفضة عند التقاطها بمقابض معدنية.

يتم التخلص من الجليسرول من الوحدات المجمدة بعد تميعها في الحمام المـائي بدرجـة ٣٧م أو بدرجـة حرارة الغرفة بشكل بطيء لتجنب تحلل الخلايا الحمراء ويغسلها بمحلول كلوريد الصوديوم الذي يعتمد حجمه وتركيزه على الطريقة المتبعة. يستعان بأجهزة الطرد المركزي أو الترويق في فصل الغسول من الخلايا الحمراء. يمكن التأكد من اكتمال غسل الخلايا الحمراء من الجليسرول بإضافة عدة نقط من الخلايا الحمراء إلى انبوب محلول ملحي فسيولوجي (N.S) حيث يدل عدم ظهور الهيموجلوبين الحر على اكتمال الغسل.

يجب أن يعـدل تركيز الجليسـرول في محلول الخـلايا الحمراء بعد غسلها لحوالي ١-٢٪ لأن الزيادة أو النقصان في هذه النسبة يسبب تحلل الخلايا الحمراء. تغسـل الخـلايا الحمـراء على عدة مراحـل يتضاءل خلالها تركيز محلول كلوريد الصـوديوم إذ قد يبدأ الغسيل بمحلول ١٢٪ كلوريد الصوديوم حتى تعلق الخلايا الحمـراء في النهاية بمحلول ملحي طبيعي (N.S) يحتوي على ٠,٢٪ جلوكوز. يجب أن يعطى الدم المجمد للمريض خلال ٢٤ ساعة من تميعه.

تتميز عملية حفظ الخلايا الحمراء مجمدة بما يلي :-

١- التوقف الكامل أو شبه كامل لجميع النشاطات الحيوية في الخلايا مما يحافظ على المستوى الطبيعي لجزيئات ATP و 2,3 DPG .

٢- استبعـاد المضاعفات الناتجة عن وجود الخلايا البيضاء والصفائح الدموية في المرضى الـذي يعانون من وجود اجسامها المضادة لأن تجميد الخلايا الحمراء وتميعها يعطل نشاط معظم الخلايا البيضاء والصفائح الدموية.

٣- امكانية حفظ الخلايا الحمراء لفترات زمنية غير محدودة عملياً (أكثر من ١٥ سنة) عند تجميدها في مجمدات النيتروجين السائل (١٥٠-١٩٦م تحت الصفر).

٤- ارتفاع كلفة حفظ الخلايا الحمراء في مجمدات النيتروجين السائل.

٥- لا يكفي تجميد الـدم وتميعـه للتخلص من أنتيجين HBs-ag الـذي يعـرف بـ Australian Antigon والمسبب للالتهاب الكبد الفيروسي ومن فيروس نقص المناعة المكتسبة. لكن غسل الخلايا الحمراء بحجم كبير من المحلول يقلل من امكانية انتقالها وتأثيرها على المريض بسبب زيادة تخفيفها وانقاص فعاليتها.

وفيما يلي الخطوات العملية الخاصة بحفظ الخلايا الحمراء في مجمدات سائل النيتروجين :-

١- تفصـل البلازما عن الخلايا الحمراء بقوة طرد مركزي تعادل ٥٠٠٠ج/د لمدة خمسة دقائق وتنقل مع بقية الصفائح الدموية والخلايا البيضاء إلى الحجرة المجاورة.

٢- يضاف إلى الخلايا الحمراء ما يعادل وزنها من محلول ٣٥٪ جليسرول الذي يحتوي على المانيتول (Manitol) بنسبة ١,٤٤٪ بشكل بطيء مع مزج مستمر وفي جو معقم بالأشعة فوق النبفسجية.

٣- يوضع محلول الخلايا الحمراء والجليسرول في الحقائب المعدنية بعدذ تدوين الرقم المتسلسل للمتبرع ومجموعته الدموية (Rh-Hr, ABO) وتاريخ سحب الدم على الحقيبة البلاستيكية والحقيبة المعدنية.

٤- توضع الحقيبة المعدنية في مجمدات النيتروجين السائل (١٩٦ تحت الصفر) بناء على جدول خاص بمجموعتها وموقعها في الثلاجة.

تحفظ الخلايا الحمراء بالطريقة السابقة لفترات زمنية غير محدودة عملياً إذ تزيد عن ١٥ سنة.

تميع الخلايا الدموية المجمدة في النيتروجين السائل بالطريقة السابقة كما يلي :-

١- توضع الحقيبة المعدنية في حمام مائي بدرجة ٣٧م أو بدرجة حرارة الغرفة.

٢- تغسـل الخلايا الحمراء لمرة واحدة عن طريق الترويق بمحلول ٣,٥٪ كلوريد الصودويوم وذلك للتخلص من الجليسيرول.

٣- تغسل الخلايا الحمراء مرتين بمحلول ٠,٩٪ كلوريد الصوديوم.

٤- تعلق الخلايا الحمراء بما يعادل حجمها من محلول ٠,٩٪ كلوريد الصوديوم.

٥- ويتم اجراء الموافقة ويعطى محلول الخلايا الحمراء للمريض خلال ٢٤ ساعة من تمييعه.

الفصل التاسع

ـ نقل الدم ومضاعفاته

صرف الدم المناسب للمريض المناسب

يصرف الدم أو مكوناته بناء على طلب رسمي مطبوع وموقع من الطبيب المعالج موضحاً فيه طبيعة الدم المطلوب وغايات نقل الدم بناء على تشخيصه واسم المريض ثلاثيا ومجموعته الدموية بناء على نظام ABO وRh-Hr والرقم المتسلسل لملفه الطبي ورقم غرفته وسريره. يراعى الحصول على ٥ - ١٠ ملل من دم المريض المتخثر قبل ٢٤ ساعة من موعد نقل الدم بحيث تسحب من الوريد في اليد المقابلة لتلك التي يتعاطى فيها المحاليل إن وجدت. عند تعذر الحصول على كمية كافية من دم الوريد كما في الأطفال يمكن جمعه عن طريق شكة الجلد بالأنابيب الشعرية الخالية من الهيبارين لفصل المصل عن الخلايا الحمراء بقوة الطرد المركزي. يوضح الشكل رقم (١٦ أ،ب) بطاقة طلب نقل دم موضحاً بها البيانات المطلوب تدوينها حيث تمثل أ وجه البطاقة و ب ظهرها.

يجب التفاهم الكامل بين الطبيب المعالج والعاملين في بنك الدم بناء على الأسس التالية:ـ

١ـ تصرف أقدم وحدات الدم الصالحة للنقل عند الحاجة لاستبدال معظم دم المريض.

٢ـ يصرف الدم الذي يقل عمره عن خمسة أيام لمن يعاني من تحلل الخلايا الحمراء أو عدم نشوئها لأنها تكون محتفظة بمعظم حيويتها.

٣ـ يصرف الدم الذي يقدر عمره بـ ٥ـ٧ أيام لمن يعاني من الأمراض النازفة لأنه يكون محتفظاً بمعظم عوامل تجلطه.

٤ـ كما يصرف الدم الذي لا يزيد عمره عن ٧ أيام لأمراض الكلى المزمنة لتجنب زيادة تركيز أيونات البوتاسيوم في المصل ولأمراض الكبد المزمنة لتجنب زيادة تركيز الأمونيا.

٥ـ تصرف الخلايا الحمراء فقط في بعض حالات فقر الدم.

المملكة الأردنية الهاشمية
بسم الله الرحمن الرحيم

وزارة الصحة

طلب نقل دم لمستشفى ....

مركز بنك الدم في ..

في .... / / ١٩

اسم المريض .... عمره .... ذكر/انثى ....

العنوان الكامل ....

هاتف ......

كمية الدم المطلوبة: بلازما | خلايا | دم كامل

...... سم ...... سم ...... سم

فصيلة الدم ....

حالة الصرف: حالا | تحت الطلب

ضع خطاً تحت المكان المنطبق على الحالة

(أ)

وهو مصاب بـ .... في قسم غرفة رقم

وقد أخذ / لم يأخذ دماً في السابق

في حالة الولادة يذكر عدد الاطفال الاحياء الاموات والذين اصيبوا بيرقان شديد بعد الولادة ....

اسم الطبيب المعالج توقيعه ....

ملاحظة : يرجى من الطبيب
(١) تأمين ٥ سم٣ من دم المريض لاجراء اختبار التوافق (لا يضاف أي شيء للدم)
(٢) ارسال الأهل للتبرع بالدم لمريضهم
(٣) كتابة عنوان المريض بالتفصيل
(٤) كتابة التشخيص بدقة مع اية تفاصيل اخرى

قرار رقم ٨٧/٣١٤

لاستعمال مركز بنك الدم

فصيلة دم المريض

التوقيع

(ب)

الوحدات المتبرع بها للمريض

	رقم الوحدة	ك / ف	التاريخ	التوقيع
١				
٢				
٣				
٤				
٥				
٦				
٧				
٨				

الوحدات المصروفة للمريض

	رقم الوحدة	ك / ف	تاريخ السحب	تاريخ الصرف	التوافق	التوقيع
١						
٢						
٣						
٤						
٥						
٦						
٧						
٨						

ملاحظات

شكل رقم (١٦ أ،ب)

٦- تصرف البلازما الطازجة المجمدة في بعض الأمراض النازفة كالناعور أو نقص الفيبرينوجين.

٧- كما تصرف الصفائح الدموية لمن يعاني من زيادة زمن النزف بسبب نقصها.

٨- كما تصرف البلازما المجمعة لزيادة حجم الدم كما هو الحال في حالة الحروق.

٩- لا يصرف الدم المسحوب على سترات الصوديوم لعمليات القلب المفتوح بل يصرف لهم الدم المسحوب على الهيبارين كمانع تجلط.

١٠- لا يصرف دم بعض المتبرعين لبعض المرضى. لذا لا يصرف لأي مريض دم أي متبرع أكثر من مرة واحدة وخاصة إذا كانت المدة الفاصلة أقل من ٤٨ ساعة.

١١- يجب أن يصرف الدم للمريض بعد التأكد من مطابقته لمجموعته الدموية في نظام ABO و Rh-Hr وتجنب قدر الإمكان الاعتماد على دم المتبرع العام (Universal Donor) المصنف بالمجموعة الدموية O .

١٢- يجب استبعاد المضاعفات المحتملة بسبب وجود الأجسام المضادة أو الأنتيجينات غير المتوقعة بعد اختيار الدم المطابق لدم المريض بناء على نظام ABO و Rh-Hr باجراء تجربة الموافقة الكبرى والصغرى بين دم المريض ووحدة الدم.

١٣- يجب التأكد من سلامة جميع الخطوات الفنية باعادتها على عينات جديدة من المريض ووحدة الدم عند عدم التوافق بين دم المتبرع ودم المريض.

١٤- يجب عدم نقل دم المتبرع العام (O) لأي مريض لم يتوافق مع دمه مصل المتبرع العام المخفف ٥٠ مرة لإجراء الموافقة الصغرى.

١٥- يصرف الدم للأطفال حديثي الولادة (أقل من ٦ شهور) بعد اجراء الموافقة بين دم المتبرع من جهة ودم الطفل ودم والدته من الجهة الأخرى لأن الأجسام المضادة Anti-A و Anti-B لا تكتمل إلى بعد الولادة بـ ٣-٦ شهور. لذا تمثل الأجسام المضادة في مصل الطفل (< ٦ شهور) بقايا الأجسام المضادة لوالدته التي تسربت إلى دمه عن طريق المشيما مع أجسامه المضادة.

١٦- تتميز عملية الموافقة لمن يعاني من فقر الدم التحللي بالصعوبة وندرة التوافق الكامل. لذا يمكن المساهمة في اختيار أكثر وحدات الدم توافقاً مع دم المريض باجراء الموافقة مع أكبر عدد ممكن من وحدات الدم من نفس المجموعة

الـدموية للمريض وذلك باستخدام التخفيف المتسلسل. يجب ابلاغ الطبيب المعالج بمدى توافق الدم المصروف في هذه الحالة مع دم المريض.

١٧- يُستخدم الدم المسحوب من المريض لموافقته مع جميع وحدات الدم التي يأخذها في فترة زمنية لا تتجاوز ٤٨ ساعة. لذا يجب سحب عينة دم جديدة من المريض لموافقتها مع وحدات الدم المنوي اعطائها له بعد مرور ٤٨ ساعة على حصوله على أول وحدة دم توافقت مع العينة الأولى.

١٨- يجب الاحتفاظ بعينة دم المريض والمتبرع المستخدمة للموافقة لمدة أسبوع على الأقل بعد نقل الدم للرجوع إليها لتقصي المضاعفات إن حدثت.

نقل الدم ومضاعفاته المحتملة

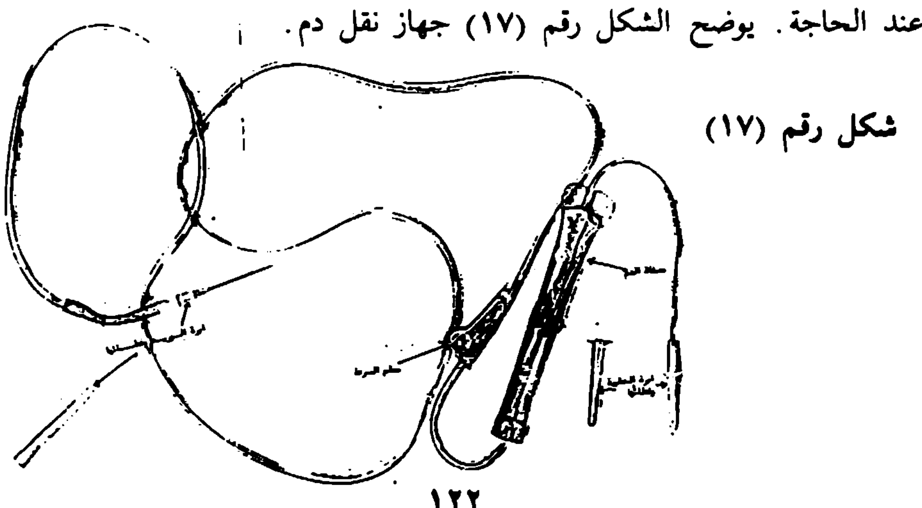
Blood Transfusion and Possible Reactions

قبل نقل الدم أو أي من مكوناته يجب التقيد بالأمور التالية:-

١- يجب التأكد من أن الاسم الخاص بالمريض ورقم ملفه وسريره وغرفته ومجموعته الدموية بنظام ABO ونظام Rh-Hr مطابقة للمعلومات المدونة في طلب نقل الدم.

٢- يجب التـأكـد من التطابق بناء على نظام ABO و Rh-Hr بين وحدة الدم ودم المريض. لذا يعاد التأكد من المجموعة الدموية للمريض وتطابقها مع وحدة الدم المنوي نقلها مباشرة قبل نقلها.

ينقل الدم للمريض عن طريق المحلول الملحي حيث يجب تجنب إضافة أي دواء إليه. يجب أن يشمل جهاز نقل الدم على المرشحات المناسبة لمنع مرور الجلطات الدموية الصغيرة أو كتل الخلايا الحمراء أو للتخلص من الخلايا البيضاء عند الحاجة. يوضح الشكل رقم (١٧) جهاز نقل دم.



شكل رقم (١٧)

يعاني المرضى الذين ينقل لهم كميات كبيرة من الدم البارد بشكل سريع من اختلال في دقات القلب والموت أحياناً. لذا يراعى تدفئة الدم في هذه الحالة مع عدم تجاوز درجة ٣٧م لتجنب تحلله. تستخدم أجهزة نقل الدم القياسية حيث يعادل كل ١ ملل من الدم ١٥ نقطة. يُنقل الدم إلى المريض بأجهزة النقل القياسية بسرعة ٦٠ نقطة في الدقيقة (٤ ملل/د) أو ما يعادل ٢٤٠ ملل دم في الساعة. لذا يستغرق نقل وحدة الدم للمرضى الذين لا يعانون من القصور الرئوي أو من قصور القلب حوالي ١-٢ ساعة. يجب زيادة سرعة نقل الدم لمن يعاني من النزيف الكثيف الحاد في حين يجب انقاصها لمن يعاني من فقر الدم الحاد أو قصور القلب. وكقاعدة عامة يعطى الدم لأي مريض بشكل بطيء خلال أول ربع ساعة لمراقبة رد فعل المريض وخاصة عند اعطائه دماً غير مطابقٍ أو الأكثر تطابقاً مع دمه أو سبق وتعرض لمضاعفات نقل دم. لذا يجب مراقبة رد فعل المريض عند نقل الدم وأثنائه بعد كل ربع ساعة مرة واحدة خلال أول ٤٥ دقيقة وفي نهاية نقل الدم. نظراً لأهمية نقل الدم وإمكانية تعرض المريض لمضاعفاته فيجب أن يكون تحت إشراف الطبيب.

تصنف مضاعفات نقل الدم بناءاً على أسبابها إلى مضاعفات مناعية ومضاعفات غير مناعية وبناءاً على وقتها إلى مضاعفات مباشرة تشاهد خلال أو بعد نقل الدم بساعة أو بعدة ساعات ومضاعفات غير مباشرة تلاحظ خلال أيام أو أسابيع أو حتى شهور من نقل الدم. وفي ما يلي أهم مضاعفات نقل الدم المناعية المباشرة:-

١- مضاعفات نقل الدم التحللية (Hemolytic Trans,. Reactions) :-

تعتبر مضاعفات نقل الدم التحللية من أهم مضاعفات نقل الدم وتنشأ بسبب عدم التطابق المصلي بين دم المريض ودم المتبرع حيث تحلل الخلايا الحمراء بشكل سريع داخل الأوعية الدموية أو خارجها وخاصة في النظام الشبكي الطلائي.

يعتبر عدم التوافق المصلي بناء على نظام ABO بسبب الأخطاء الشخصية أو نتيجة الأنتيجينات A_2 و A_2B التي لا يتم التحري عنها في الفحص الروتيني من أهم أسباب تحلل الخلايا الحمراء داخل الأوعية الدموية نظراً لأن الأجسام المضادة Anti-A و Anti-B طبيعية وكاملة (IgM) فإنها تحلل الخلايا الحمراء بشكل فوري. كما تحلل الخلايا الحمراء في بعض الحالات عند اعطاء المريض O-ve في حالات الأسعاف الطارئة حيث لا تتوفر أية فرصة للموافقة بشكل كامل.

يعتبر القلق وعدم الاستقرار واحمرار الوجه وزيادة سرعة دقات القلب والتنفس ونمنمة عامة وآلام في الظهر والفخدين متبوعة في بعض الأحيان بالدوار والغثيان وحكة الجلد والصدمة وانخفاض درجة الحرارة والغيبوبة وامكانية توقف القلب من أعراض المضاعفات المباشرة لتحلل الخلايا الحمراء. كما يمكن أن يعاني المريض من قشعريرة قبل ارتفاع درجة الحرارة إذ قد تصل لحوالي ٤٠م أو أكثر.

كما يعتبر عدم التوافق المصلي بناء على نظام Rh-Hr بسبب الأجسام المضادة Anti-D و Anti-C و Anti-E من أهم أسباب تحلل الخلايا الحمراء خارج الأوعية الدموية. قد يتأخر ظهور أعراض تحلل الخلايا الحمراء داخل الأوعية الدموية إلى ٢-١٤ يوم وهذا وقت كافٍ لزيادة تركيز الأجسام المضادة في المصل إلى مستوى يكفي لتحلل الخلايا الحمراء.

يعتبر القصور الكلوي وإمكانية النزيف من أخطر مضاعفات نقل الدم التحللية. ينشأ النـزيف بسبب حدوث الجلطات الموضعية نتيجة تحرر ثرومبوبلاستين الخلايا الحمـراء المتحللة الذي يستنزف بعض عوامل التجلط كالفيبرينوجين والعامل رقم VIII والصفائح الدموية ومركبات تحلل الفيبرين.

يصنف القصور الكلوي الناتج عن المضاعفات التحللية بناء على حدته إلى ثلاثة مستويات كما يلي:-

١- القصـور الكلوي الحـاد والمؤقت الذي ينشأ بسبب نقل كميات قليلة من دم المتبرع غير الموافق لدم المريض وهو أكثر الحالات انتشاراً.

٢- القصور الكلوي الحاد الذي يسبب تلف وحدات الامتصاص الكلوية بسبب نقل حوالي ٢٠-٥٠ ملل من دم المتبرع غير المتطابق مع دم المريض.

٣- القصور الكلوي الحاد والدائم الذي يسبب تلف الجزء الخارجي للكليتين بشكل غير قابل للعلاج مما قد يسبب احتباس نهائي للبول.

يمكن متـابعة مضاعفات نقل الدم التحللية بقياس سرعة إدرار البول إذ يدل نقصهـا التدريجي على أن الوضع الصحي للمريض في تراجع تدريجي. يمكن تقصي أسباب مضاعفات نقل الدم التحللية ومتابعتها بعدد من التجارب المخبرية. تشير زيادة تركيز البيليربـوبين الحـر في المصـل وظهـوره في البول ونقص تركيز الهـابتـوجلوبين إلى تحلل الخـلايا الحمــراء. كمـا يشير ظهـور الميثـالبـومين

(Methalbumin) ونقص سرعة إدرار البول إلى خطورة المضاعفات وحدتها.

٢ـ مضاعفات وجود الأجسام المضادة للخلايا البيضاء (Leukoagglutenins) :-

ترتفع درجة الحرارة دون تحلل الخلايا الحمراء في حوالي ٣ـ٤٪ من مضاعفات نقل الدم وحوالي ٣٣ـ٥٠٪ من المضاعفات غير المصحوبة بالتحلل بسبب وجود الأجسام المضادة للخلايا البيضاء أو الصفائح الدموية. تتميز أعراض هذه المضاعفات برعشة مفاجئة يتبعها تصلب العضلات وتشنج الأطراف وارتفاع درجة الحرارة ولآم في الرأس والدوار مصحوباً بالغثيان بعد مرور حوالي ١ـ٢٤ ساعة من نقل الدم. تختلف حدة المضاعفات من مريض لآخر ممن تكرر نقل الدم إليهم بشكل غير عادي إذ قد يلازم بعضهم ظهور الراشح الرئوي مما قد يسبب ظهور قشعريرة وارتفاع درجة الحرارة وزيادة دقات القلب (Tachycardia) وسعال مخنوق واضطراب عملية التنفس. كما قد يعاني الذين ينقل إليهم الدم بشكل مكثف من امكانية تعرضهم للقصور الرئوي الخاص بالبالغين (Adult Respiratory Distress Syndrome) بسبب تكتل الخلايا البيضاء والصفائح الدموية في وحدة الدم أثناء حفظها في الثلاجة مما يساهم في نشوء جلطات دموية متفرقة والتهاب رئوي أو أية أعراض أخرى. تتميز هذه الحالة بوجود راشح في الرئتين أو احتقانها وانسدادات متعددة للأوعية الدموية بسبب رواسب خلوية غير منتظمة. تستخدم المرشحات (40 um) لتجنب مضاعفات راشح الرئات عندما ينقل الدم المحزون أو المجمد بشكل مكثف عن طريق فصل الخلايا البيضاء.

توجد الأجسام المضادة للخلايا البيضاء في حوالي ٥٠٪ من الأشخاص الذين نقل إليهم الدم أكثر من ٢٥ مرة. يعالج هؤلاء الأشخاص باعطائهم دماً شبه خال من الخلايا البيضاء. يمكن التخلص من جميع الخلايا البيضاء بترشيح الدم من خلال شبكة خيوط من النايلون تمنع مرور الخلايا البيضاء. كما يمكن التخلص من معظم (٨٠٪) الخلايا البيضاء بفصل الخلايا الحمراء المترسبة بفعل الجاذبية الأرضية من وحدة الدم.

٣ـ الحساسية لمكونات البلازما (Allergy to Plasma Components) :-

تظهر هذه المضاعفات عند من يعانون من خلل في عملية نشوء الخلايا الدموية

أو من يعانون من مضاعفات نقل الدم المكثف الممثلة بالقشعريرة وارتفاع درجة الحرارة وآلام في الظهر والساقين وانقباضات القناة الهضمية.

تظهر هذه المضاعفات بالرغم من التوافق السيرولوجي بين دم المريض ودم المتبرع خلال نصف ساعة من نقل البلازما للمريض. تعتبر البلازما مسؤولة عن نشوء هذه المضاعفات.

٤ـ مضاعفات غير مناعية مباشرة:ـ

يعتبر النقل المكثف للدم من أهم أسباب المضاعفات غير المناعية المباشرة والتي تتمثل بما يلي:ـ

أـ اجهاد الدورة الدموية:ـ يعتبر اجهاد الدورة الدموية أهم نوع من المضاعفات غير المناعية المباشرة حيث تجهد الدورة الدموية خلال ٢٤ ساعة من نقل الدم المكثف أو عندما يعطى المريض كميات قليلة من الدم بسرعة عالية وخاصة إذا كان يعاني من ضعف القلب. يسبق قصور الدورة الدموية سلسلة من السعال المتقطع وآلام في الظهر وأسفل البطن والجزء الأيسر من الصدر وضيق التنفس وزرقة اللون. يمكن تجنب اجهاد الدورة الدموية للمريض عن طريق قياس ضغط الدم قبل نقل الدم إذ يجب عدم نقله للمريض إذا كان ضغطه مرتفعاً. أما في المرضى الذين يعانون من ضعف القلب فيتم تجنب اجهاد دورتهم الدموية وقصورها باعطائهم الدم وهم جالسون بسرعة ٢ ملل/ الساعة/كغم من وزن الجسم.

ب ـ المضاعفات الاستقلابية (Metabolic B.T. Reactions) :ـ تنشأ المضاعفات الاستقلابية عند تعاطي كميات كبيرة من الدم القديم نسبياً أو تعاطي كميات كبيرة من موانع التجلط (CAD or CPD) مما يساهم في قاعدية الدم (Hyperkalemia) وامكانية التسمم بالبوتاس أو السترات. يخرج البوتاسيوم من الخلايا الحمراء وقد يصل تركيزه في الدم إلى حوالي ١٥ـ٢٠ مليمول/لتر بعد ١٠ـ١٤ يوم من حفظه بدرجة ٤م. من النادر تراكم أيون السترات في الدم وحدوث التسمم لأنه يستهلك بشكل سريع إلا إذا نقل الدم بشكل سريع لمن يعانوا من قصور الكبد. تظهر التشنجات وتصلب العضلات الهيكلية إذا زاد تركيز أيون السترات في الدم عن ١٠٠ ملغم/دل حيث قد يتوقف القلب.

كما تعتبر زيادة حامضية الدم بسبب نقص تركيز أيونات الكالسيوم وإمكانية النزف بسبب نقص عوامل التجلط من مضاعفات النقل المكثف للدم القديم.

وفي ما يلي أهم مضاعفات نقل الدم غير المباشرة:-

أ- التهاب الكبد الفيروسي (Viral Hepatitis) :- يعتبر التهاب الكبد الفيروسي من أهم المضاعفات غير المباشرة لعملية نقل الدم. تظهر الأعراض السريرية عند حقن ١×١٠-٤ ميليلتر من البلازما الملوثة في الأوردة كما تظهر آثاره السيرولوجية عند حقن ١×١٠-٧ تحت الجلد. توضح الحقائق السابقة خطورة استخدام مشتقات الدم المجمع من عدد من وحدات الدم. تعتبر مكونات الدم الغنية بعوامل التجلط من اخطر مصادر التلوث بالفيروس لأنه يوجد فيها بشكل مكثف بالمقارنة مع بقية مكونات البلازما بسبب عدم استخدام الحرارة في تعطيل الأنزيمات لأنها تعطل عوامل التجلط أيضاً. يجب اتخاذ كافة الاحتيطات اللازمة لمنع انتقال الفيروس (HBs Ag) المسؤول عن التهاب الكبد الفيروسي عن طريق نقل الدم كما يلي:-

١- يجب اتلاف جميع وحدات الدم التي يظهر فيها الأنتيجين (HBs Ag) المسؤول عن التهاب الكبد الفيروسي والذي يعرف بـ (Australian Ag) .
٢- الاعتماد على المتبرعين الموثوق من تاريخهم الصحي من المقيمين بجوار بنك الدم وعدم التعامل مع المتبرعين الغير موثوق بتاريخهم الصحي.
٣- تجنب سحب الدم من المخالطين لمرضى التهاب الكبد الفيروسي لمدة ستة شهور من انتهاء المخالطة ومن المدمنين على تناول الكحول والمخدرات.
٤- ابلاغ بنك الدم بجميع حالات التهاب الكبد الفيروسي في المناطق المجاورة له لتجنب سحب الدم منهم ومن مخالطيهم.
٥- تجنب الاعتماد على العلاج بنقل الدم إلا في الضرورة القصوى.
٦- انقاص فرصة الأصابة بالتهاب الكبد الفيروسي بتطعيم العاملين في بنوك الدم بمصل المناعة العادي (Immuno Serum Globulin) أو بالجلوبولين المضاد للأنتيجين (HBs-Ag) علماً أن الطعم الأخير أشد فعالية.

ب- انتقال مرض نقص المناعة المكتسبة:- يعتبر الدم أهم وسط لانتقال الفيروس المسبب لنقص المناعة (IDV=Immune Defeciency V.) والذي يعطل قدرة الخلايا الليمفاوية .T على تكوين بروتينات المناعة في الأنسان. لذا يجب

استبعاد وجود الفيروس في وحدات الدم بتجربة الميكروإليزا (Microelesa Test) .

جـ- الالتهابات الجرثومية الأخرى والملاريا والزهري :- يمكن تجنب انتقال الزهري باجراء تجربة VDRL أو Khan على وحدات الدم قبل نقلها. تكون نتائج التجارب السابقة سلبية في حدة الإصابة (نهاية المرحلة الأولى وبداية المرحلة الثانية). تموت جرثومة Trepenomapallidium المسؤولة عن الزهري عندما تحتفظ وحدات الدم لمدة ٩٦ ساعة بدرجة ٤-٦م. أما طفيل الملاريا فيحتفظ بنشاطه بدرجات الحرارة الباردة التي قد يتعرض لها أثناء حفظ وحدات الدم في الثلاجة. لذا يصرف للمرضى علاج الملاريا كاجراء وقائي في البلاد الموبوءة قبل نقل الدم.

د - انتقال فيروس (CMV= Cytomegalovirus) :- عن طريق النقل المكثف للدم أو نقل النخاع العظمي أو استبدال دم الطفل بعد الولادة. نظراً لأن CMV ينتقل عن طريق الخلايا البيضاء فيمكن تجنب التلوث بهذا الفيروس بالتخلص من الخلايا البيضاء الموجودة في وحدات الدم المنقولة.

هـ- التلوث الجرثومي أثناء سحب الدم :- نظراً لتوفر ظروف التعقيم في بنوك الدم الحديثة فيندر حدوث التلوث الجرثومي لوحدات الدم أثناء سحبها من المتبرعين. تعتبر مضاعفات التلوث الجرثومي من أخطر مضاعفات نقل الدم. تشمل الجراثيم المكتشفة في وحدات الدم على ما يلي :-

Coagulase Negative, Staphylococcus, Dephtheria, Entrococci
Staphylococcus Auers & B.subtiles.

يعتبر ارتفاع درجة الحرارة من أهم مضاعفات جراثيم جرام الإيجابية (Gram+ ve) في حين ينشأ عن التلوث بجراثيم جرام السلبية (Gram-ve) صدمات مميتة لأن معظمها يحصل على حاجته من الكربون من السترات وتتكاثر بدرجة ٤-٧م. يعتبر Pseudomonas من أخطر جراثيم التلوث إذ ترتفع درجة الحرارة وينخفض الضغط ويتبع ذلك آلام أسفل البطن والأطراف والصدمة المميتة خلال ٦ ساعات. يعاني المريض إذا عاش ٢٤ ساعة من الأسهال الشديد والتقيؤ الحاد ومظاهر القصور الكلوي. تشخص هذه الحالة بالفحص المجهري لشريحة دم مصبوغة وزراعة بقايا وحدة الدم. يوضح الجدول رقم (٢٤) كيفية تقصي أسباب مضاعفات نقل الدم مخبرياً.

العينات الخاصة بالمريض	العينات الخاصة بالمتبرع	الوقت المناسب لسحب العينة	التجارب المخبرية	الأخطاء المحتملة والنتائج المتوقعة
	بقايا الدم والدم المرافق لوحدة الدم المعروفة.	حال اكتشاف حدوث المضاعفات.	التأكد من المجموعة الدموية Rh-Hr, ABO والموافقة.	اخطاء فنية أو كتابية في اجراء الموافقة.
عينة دم على سيترات أو أوكسلات		بعد المضاعفات ٦-١٢ ساعة.	الفحص المجهري.	تكتل الخلايا الحمراء.
محلول خلايا حمراء مغسولة		بعد المضاعفات ١٢-٤٨ ساعة.	تجربة كومب المباشرة.	ايجابية في المضاعفات التناعية.
المصل أو البلازما.		بعد المضاعفات ١٢-٤٨ ساعة.	قياس تركيز الهيموجلوبين.	Hemoglobinemia في المضاعفات التحللية.
المصل.		بعد المضاعفات ٢٤-٧٢ ساعة.	قياس تركيز البليروبين الحر.	زيادة تركيز البليروبين الحر في المضاعفات التحللية.
المصل.		بعد المضاعفات ٣٦ ساعة.	قياس تركيز البولينا والمركبات النيتروجينية في البلازما.	Azotemia & Uremia في المضاعفات التحللية.
المصل.		بعد اكتشاف المضاعفات مباشرة.	الكشف عن Leucoagglutenins	وجود أجسام مضادة للخلايا البيضاء.
البول.		بعد المضاعفات مباشرة وحتى ٤٨ ساعة.	الكشف عن الهيموجلوبين.	Hemoglobinuria. في المضاعفات التحللية.
البول.		وحتى الشفاء من المضاعفات.	قياس حجمه وسرعة الادرار.	تناقص سرعة ادرار البول تدريجيا (Oligouria) في المضاعفات التحللية.

جدول رقم (٢٤)

الفصل العاشر

- بعض حالات نقل الدم الخاصة ومضاعفاتها

- نقل الدم لأطفال الخداج
- نقل الدم للأجنة
- استبدال الدم
- نقل الدم الذاتي
- نقل الخلايا الدموية (Platlets, WBCs, RBCs)
- نقل البلازما ومشتقاتها

نقل الدم للأطفال حديثي الولادة.

Neonatal Blood Transfusion

يشكل الدم حوالي ١٠٪ من وزن الطفل الرضيع وحديثي الولادة ويقدر بحوالي ١٥٠-٢٠٠ ملل لأطفال الخداج الذين يقدر وزنهم بـ ٠,٥-١,٠ كغم. لذا كثيراً ما يتعرض أطفال الخداج للخطر بسبب نقص حجم دمهم عندما يفقدون كميات قليلة نسبياً (١٠-٢٠ ملل) من الدم بسبب النزيف أو على هيئة عينات مخبرية. يمكن تجنب نقص حجم دم أطفال الخداج لهذه الأسباب أو غيرها عن طريق نقل جرعات صغيرة من الدم تقدر بـ ٧-٢٠ ملل/يوم. كما ينقل الدم لأطفال الخداج أو الأطفال حديثي الولادة في الحالات التالية:-

١- استبدال الدم للتخلص من المواد السامة كالبيليروبين والأجسام المضادة.
٢- جميع حالات فقر الدم التي يتعرض لها الأطفال الخداج أو حديثي الولادة.
٣- العمليات الجراحية لأطفال الخداج أو حديثي الولادة.
٤- جميع حالات نقص حجم الدم الناتجة عن ظروف المخاض والولادة.
٥- قصور النظام التنفسي وخاصة في أطفال الخداج.

يجمع دم المتبرعين ويوزع في حقائب CPD رباعية تحتوي الواحدة منها على ١٢٥ ملل. تنقل محتويات كل حقيبة على مدى ٢٤ ساعة بشكل بطيء.

يتم موافقة دم الطفل ودم والدته مع وحدات الدم المنقولة مرة واحدة كل أسبوع حيث ينقل إليه الدم ١٦ مرة. كما يمكن موافقة وحدة الدم الواحدة مع عدد مناسب من الأطفال وأمهاتهم.

تلجأ بعض وحدات العلاج المكثف إلى نقل دم O-ve من متبرعين على الماشي (Walking Donors) بالحقن البلاستيكية. ينصح عدم اعتماد اسلوب التبرع على الماشي إلاّ في حالات الضرورة القصوى لأن الدم المنقول لم يخضع لتجربة الموافقة وقد تساهم زيادة نسبة الهيبارين في حدوث مضاعفات خطيرة بالإضافة إلى

أن المتبرعين المقيمين في المستشفى معرضون للالتهاب الكبد الفيروسي ونقص المناعة المكتسبة أكثر من غيرهم. يعتبر وريد الجبهة في الطفل الخداج أنسب مواقع نقل الدم.

- نقل الدم للأجنة

Intrauterine Blood Transfusion

نظراً لأن فقر الدم التحللي مسؤول عن حوالي ٥٠٪ من وفيات الأجنة قبل بلوغهم أسبوعهم الثلاثين من أعمارهم ونظراً لانعدام جدوى الولادة المسبقة في انقاذهم بسبب عدم اكتمال نموهم فإن لعملية نقل الدم أهمية خاصة لأنها تساهم في انقاذهم بشكل فعّال. ينقل الدم للأجنة أثناء الحمل بحقنه في التجويف البيريتوني للجنين. تنتقل الخلايا الحمراء إلى الدورة الدموية للجنين عن طريق القناة الليمفاوية اليمنى. ينتقل حوالي ١٢٪ من الخلايا الحمراء الموجودة في التجويف البيريتوني للجنين إلى دورته الدموية يومياً عند غياب الاستسقاء. لذا يتم انتقال جميع الخلايا الحمراء من التجويف البيريتوني للجنين إلى دورته الدموية خلال ٨-٩ أيام. يقل تركيز هيموجلوبين الجنين في بداية نقل الدم إليه (خلال ٤٨ ساعة) لأن سرعة انتقال البلازما أعلى من سرعة انتقال الخلايا الحمراء.

نظراً لضرورة التوافق المصلي بين دم المتبرع ودم الجنين ولصعوبة تحديد المجموعة الدموية للجنين فيجب اعطاء الجنين O-ve بعد موافقته مع دم الأم الحامل. يجب أن لا يعطى الجنين أي دم قبل مرور عشرة أيام على عملية النقل السابقة. كما يجب عدم نقل الدم خلال شهر بعد النقل الثاني وأن لا تتأخر آخر عملية نقل للدم عن ٣٤ أسبوع من عمره حيث تكون الولادة المصطنعة ممكنة.

تحافظ عملية نقل الدم للجنين على تركيز الهيموجلوبين بحدود ١٠-١١ غم. تقدر كمية الدم التي يمكن اعطائها للجنين بناء على وزنه الموضح بالجداول الخاصة باعمار الأجنة وأوزانها بحيث يعطى ٨٥ ملل دم لكل كغم من وزنه مما يسمح باستهلاك ١٪ من الدم المنقول. يجب أن لا تزيد كمية الدم المنقولة كل مرة عن سعة التجويف البيريتوني للجنين لتجنب زيادة الضغط البيريتوني للجنين وبالتالي منع وفاته بسبب انسداد الدورة الدموية للمشيما.

يعتبر نقل الدم للجنين ناجحاً إذا زادت نسبة هيموجلوبين البالغين في دم الحبل

السري إلى حوالي ٥٥-٩٥٪ بدل ١٥-٤٠٪. يعاني حوالي ٢٥-٣٠٪ من الأجنة بعد نقل الدم الأول أو الثاني من الاستسقاء الذي يجب تجنبه. تمتص أجنة الاستسقاء الدم من تجويفهم البيريتوني بنفس كفاءة الأجنة العاديين. تقدر نسبة نجاح نقل الدم لأجنة الأستسقاء بحوالي ٢١٪ مما هي عليه في حالات نقل الدم للأجنة العاديين.

ينقل الدم للجنين إذا تجاوزت الكثافة الضوئية لسائله الرهلي (Amniotic Fluid) ٠,٢ قبل ٣٠ أسبوعاً من عمره أو ٠,٣ في الأسبوع ٣١-٣٤ من عمره.

تصنف مضاعفات نقل الدم للأجنة إلى ما يلي:-

أ- مضاعفات تلحق بالأم الحامل وتشمل الالتهابات الجرثومية أو الفيروسية وإمكانية اختراق الأبرة للغشاء البيريتوني الخاص بالأم وتلوث دم الأم بالسائل الأمنيوني مما يعرضها للجلطات الدموية ومن ثم النزيف.

ب- مضاعفات تلحق بالجنين وتشمل المضاعفات المتوقعة في حالة نقل الدم للبالغين بالأضافة إلى إمكانية اختراق الأبرة لقلب الجنين أو بعض الأوعية الدموية الأساسية أو تلف المشيما والحث على المخاض والولادة... الخ.

استبدال الدم

Blood Exchange

يتم استبدال دم المريض لتحقيق الغايات التالية مجتمعة أو منفردة.

١- تنقية الدم من الخلايا الحمراء المكسوة بالأجسام المضادة.

٢- علاج فقر الدم الذي يعاني منه الطفل ومنع القصور الكلوي الاحتقاني في أطفال الاستسقاء.

٣- تنقية الدم من البيليروبين والمركبات الكيميائية الأخرى مثل البولينا وإنقاص تركيز الأجسام المضادة الموجودة في بلازما المريض.

يعمل استبدال الدم لأول مرة على تنقية الدم من ٨٥٪ من الخلايا الحمراء المكسوة بالأجسام المضادة ويقلل عدد الخلايا الحمراء المعرضة للتحلل بشكل ملحوظ وبالتالي تقل امكانية تكوين البيليروبين في الدم. لذا يوفر استبدال الدم في الساعات الأربعة الأولى من عمر الطفل امكانية استبعاد تعرضه لفقر الدم وزيادة تركيز بيليروبين الدم الخاص بالدماغ وبالتالي تجنب تلفه.

تتمثل أسلم طريقة لاستبدال دم الأطفال الذين يعانون من أو قد يتعرضوا لقصور القلب بسبب فقر الدم الحاد بسحب كمية من الدم أكبر من كمية الخلايا الحمراء المنقولة إليه. يمكن التخلص من حوالي ٩٠ ٪ من بيليروبين البلازما بالاستبدال الكامل لدم المريض حيث يستبدل ١٧٠ ملل/كغم من وزنه. تستعيد البلازما حوالي ٤٠-٦٠ ٪ من تركيز البيليروبين السابق لنقل الدم خلال ٣٠ دقيقة بعد الاستبدال لأن تركيز البيليروبين خارج الأوعية الدموية أعلى من تركيزه داخلها.

يستبدل دم المريض في الحالات التالية:-

١- يستبدل دم الأطفال حديثي الولادة الذين يعانون من فقر الدم التحللي عندما يزيد تركيز الأجسام المضادة للأنتيجين Rho(D) عن ٦٤ لتنقية الدم من البيليروبين لتجنب وفاة الطفل بسبب تلف دماغه.

٢- يستبدل دم الأطفال الخدج الذين يعانون من الاستسقاء واليرقان عندما يقل تركيز الهيموجلوبين عن ١٢ غم ٪ وزاد تركيز البيليروبين عن ٥ ملغم ٪.

٣- يستبدل دم الطفل الوليد عندما يقل تركيز الهيموجلوبين عن ١٢ غم خلال ٢٤ ساعة بعد الولادة وزاد تركيز البيليروبين عن ٢٠ ملغم خلال ٤٨ ساعة بعد الولادة.

يعتبر الحبل السري أنسب موقع لاستبدال دم الأطفال حديثي الولادة حيث يستبدل حوالي ٢٠٠ ملل بـ ١٦٠ ملل/كغم من وزن الطفل خلال ٦٠-٧٥ دقيقة. يفضل استخدام الدم المسحوب على CPD خلال ٤٨-٩٦ ساعة من سحبه في عمليات استبدال الدم. يفضل البعض استخدام الدم المسحوب على الهيبارين خلال ٢٤ ساعة من سحبه. يستخدم دم O-ve بعد موافقته مع دم الأم، بمساعدة مصل كومب المضاد للجلوبين، لاستبدال دم الطفل المريض. يعطى الطفل الذي يعاني من اليرقان ١ غم البومين لكل كغم من وزنه يومياً لزيادة قدرة الألبومين على الاتحاد مع البيليروبين. لذا يفصل ٩٠ ملل من بلازما وحدة الدم المنوي استخدامها في استبدال الدم ويستعاض عنها بـ ٦,٢٥ غم من الألبومين الخالي من الأملاح في حالة الأطفال حديثي الولادة وبـ ٣-٤ غم في حالة الأطفال الخدّج. لا يضاف الألبومين إلى وحدات الدم المنوي إعطائها للأطفال بعد الولادة مباشرة أو الذين يعانون من فقر الدم أو الاستسقاء لتجنب مضاعفات قصور القلب بسبب الزيادة

المفاجئة في حجم الدورة الدموية.

مضاعفات استبدال الدم:ـ

تتمثل مضاعفات استبدال الدم بما يلي:ـ

١ـ المضاعفات الكيميائية:ـ كزيادة تركيز البوتاسيوم وحامضية الدم عند استخدام الدم القديم كما أن نقص تركيز الكالسيوم يعمل على زيادة تركيز السترات.

٢ـ المضاعفات الخاصة بالدورة الدموية والقلب بسبب وجود فقاعة هوائية أو جلطة دموية أو تلوث جرثومي وإجهاد القلب أو الدورة الدموية بسبب زيادة حجم الدم.

نقل الدم الذاتي
(Blood Auto transfusion)

يمكن استبعاد امكانية حدوث مضاعفات نقل الدم بشكل كامل بنقل الدم الذاتي الذي يعرف باعطاء المريض دمه أو جزءاً من دمه الذي سبق وتبرع به سابقاً. وفي هذه الحالة يكون التوافق بين الدم وذاته كاملاً. يتم اللجوء لنقل الدم الذاتي في الحالات التالية:ـ

١ـ تبرع أصحاب المجموعات الدموية النادرة بعدة وحدات من دمهم تحفظ بدرجة ٤ـ٦م أو مجمدة للتحضير لعمليات جراحية متوقعة أو كاحتياطي للطوارىء.

٢ـ تبرع الذين يصعب توافق دمهم مع أي دم آخر لذاتهم بسبب وجود أجسام مضادة في دمهم.

٣ـ التبرع الذاتي للدم وحفظه مجمداً لمواجهة أخطار التعرض لجرعات كبيرة من الاشعاعات.

يجب أن يكون المتبرع لائقاً صحياً بحيث يزيد تركيز الهيموجلوبين عن ١١ غم٪ والهيماتوكزيت عن ٣٤٪ إلاّ إذا سمح الطبيب خطياً. كما يجب أن تتناسب كمية الدم المسحوبة مع وزن المتبرع وعمره بحيث لا تتجاوز في أي مرة عن ١٢٪ من اجمالي دم المتبرع. لذا يجب تعديل كمية مانع التجلط بما يناسب كمية الدم المسحوبة. نظراً لأن الدم يحتاج لثلاثة أيام لاستعادة حجمه الطبيعي فيجب أن لا تقل الفترة الزمنية بين كل وحدة وسابقتها وكذلك بين آخر وحدة وموعد اجراء العملية عن ٧٢ ساعة.

تحفظ وحدات الدم المتبرع بها للذات بنفس ظروف حفظ وحدات الدم الأخرى مع أخذ الاحتياطات اللازمة لاستعادة المريض نفس الدم الذي تبرع به عن طريق قدرته على تمييز توقعيه على وحدات الدم. يجب حفظ الدم المتبرع به للذات في مكان خاص في الثلاجة بعيداً عن الوحدات الأخرى.

كما يمكن التبرع للذات أثناء العمليات الجراحية بعد تخدير المريض وتعويضه عنه مؤقتاً بإعطائه المحلول الملحي أو محلول رينجر أو الألبومين. يستعيد المريض ما تبرع به من دمه في الوقت المناسب.

نقل الخلايا الحمراء

RBCs Transfusion

ينقل معلق الخلايا الحمراء المكثف لعلاج حالات فقر الدم المزمن حيث يقدر تركيز الهيموجلوبين بـ ٤ـ٨ غم/دل بالنسبة للبالغين وبأقل من ١٤غم/دل لأطفال الخداج أو حديثي الولادة. يفضل أن يكون مكداس معلق الخلايا الحمراء المنقولة حوالي ٦٠ـ٧٠٪ لتسهيل عملية النقل. يصعب نقل معلق الخلايا الحمراء الذي يقدر مكداس الخلايا فيه بحوالي ٩٠٪. ويعتبر مناسباً للمرضى الذين يعانون من زيادة حجم الدم في أوعيتهم الدموية. يفضل التخلص من الخلايا البيضاء من وحدات معلق الخلايا الحمراء.

تتناسب زيادة تركيز الهيموجلوبين بعد نقل معلق الخلايا الحمراء طردياً مع كمية الخلايا الحمراء المنقولة وعكسياً مع حجم دم المريض وتقدر بحوالي ١ غم/دل من محلول مركز من الخلايا الحمراء عندما يكون وزن المريض حوالي ٦٠ كغم.

نقل الصفائح الدموية

(Platlets Transfusion)

ينقل معلق الصفائح الدموية المركز لعلاج حالات نقص عدد الصفائح بسبب نقص سرعة تكوينها كما في حالات سرطان الدم وفقر الدم اللاتكوني وفي حالة نقص كفائتها. يعتبر نقل معلق الصفائح الدموية أقل فعالية في علاج حالات نقص عددها لأسباب غير محددة (Idiopathic) أو بسبب تضخم الطحال. علماً أن عملية نقل الصفائح غير فعالة وقد تكون ضارة في Thrombotic Thrombocytopenic Purpura و Disseminated Intravascular Coagulatioin .

يفضل عدم نقل الصفائح الدموية إلا بعد التأكد من مطابقتها لدم المريض بناءاً على نظام ABO علماً أنه يمكن نقل معلق صفائح غير مطابق لدم المريض في علاج نقصها مع إمكانية تعرض المريض لمضاعفات تحللية بسبب وجود أجسام مضادة Anti-A و Anti-B عندما تنقل كميات كبيرة (٣٠٠-٣٥٠ ملل) من البلازما غير المتطابقة مع الصفائح أو المريض.

كما يجب التأكد من تطابق معلق الصفائح مع أنسجة المريض بناء على الأنتيجينات HLA لأن نقل الصفائح للمرضى المصنفين بـ HLA-A2+ve أقل فعالية من نقلها للمصنفين بـ HLA-A-ve . قد لا يكون النقل فعالاً حتى في حالة تطابق معلق الصفائح مع دم المريض بشكل كامل بناء على أنتيجينات HLA و ABO . كما قد يكون النقل الذاتي لصفائح الدموية فعالاً في حالات الأورام الصلبة التي لا تؤثر في النخاع العظمي وفي حالة سرطان الدم حيث تحفظ الصفائح مجمدة.

يندر أن يعاني مرضى الجراحات الكبرى من النزيف إذا زاد عدد الصفائح الدموية عن ٣٠٠٠٠٠/ملم³ ويندر أن تنزف تقرحات الفراش إذا زاد عدد الصفائح الدموية عن ١٠٠٠٠٠/ملم³.

نقل المحببات البيضاء

(Granulocytic Transfusion)

ينقل معلق المحببات البيضاء في حالات نقص عدد الخلايا البيضاء بسبب العلاجات الشعاعية والكيميائية لمرضى سرطان الدم لوقايتهم من التلوث الجرثومي للدم وخاصة بالجراثيم المقاومة للمضادات الحيوية. تزيد إمكانية تعرض المريض للتلوث الجرثومي عندما يقل عدد الخلايا البيضاء عن ٥٠٠٠/ملم³ ويكون التلوث مؤكداً إذا نقص عددها عن ١٠٠٠/ملم³. لا يكون نقل المحببات البيضاء فعالاً ما لم ينقل ١٠^١٠ خلية محببة كل يوم ولمدة ٤-٥ أيام بشكل متواصل وذلك لأن نصف عمر الخلايا البيضاء في الدم يقدر بـ ٦-٨ ساعات. يصعب ملاحظة أي زيادة محسوسة في عدد الخلايا البيضاء بعد عملية النقل ويشير استمرار زيادة عددها بعد مرور ١٢ ساعة على عملية النقل إلى زيادة سرعة تكوينها في النخاع العظمي.

تنقل المحببات إلى المريض بعد التأكد من موافقتها لدمه بناء على نظام ABO . علماً أن أهمية التوافق بناء على نظام HLA غير ثابتة. تمارس عملية نقل

المحببات بعد جمعها مباشرة، بواسطة أجهزة نقل خاصة، على مدى ٣ـ٤ ساعات تحت إشراف الطبيب مباشرة وذلك لوقاية المريض من المضاعفات المحتملة. تتميز عملية نقل المحببات عادة بظهور مضاعفات مختلفة: كالقشعريرة وارتفاع درجة الحرارة وانخفاض حاد في ضغط الدم. يمكن الإقلال من إمكانية التعرض لهذه المضاعفات بإنقاص سرعة نقل الخلايا البيضاء عن $١٠^{١٠}$ خلية/ساعة وحقن المريض البالغ بـ ٢٥ـ٥٠ ملم من Mepridine HCl أو بهورمونات قشرة الغدة الكظرية (corticoids) . كما تشمل مضاعفات نقل المحببات تعرض المريض للالتهابات الرئوية والاستسقاء الرئوي والسعال. وتلوث الدم بفيروس Cytomegalo virus= CMV الذي يرافق الخلايا البيضاء.

لا يستعمل نقل المحببات كعلاج على نطاق واسع بسبب المضاعفات المحتملة ولأن المضادات الحيوية قادرة على القضاء على ٨٠ـ٨٥٪ من الالتهابات الجرثومية المحتملة.

نقل البلازما ومشتقاتها

أـ نقل البلازما الطازجة المجمدة (FFP) :ـ تنقل البلازما الطازجة المجمدة للمرضى بعد إسالتها مباشرة بوضعها في حمام مائي بدرجة ٣٧م لمدة ٢٠ دقيقة. تستخدم عملية نقل البلازما الطازجة المجمدة في علاج حالات نقص حجم الدم أو نقص عوامل التجلط أو عوامل المناعة وفي علاج الصدمات ولدعم عمليات النقل المكثف للدم أو لاستبدال الدم.

ب ـ نقل الراسب البارد (Cryoprecipitate) :ـ ينقل الراسب البارد للمرضى بعد إسالته مباشرة في درجة ٣٧م لمدة ٢٠ دقيقة. تستخدم عملية نقل الراسب البارد لعلاج نقص العامل الثامن كما في الناعور ومرض وليبراند.

تحتوي حقيبة الراسب البارد على ٦٠ـ١٢٠ وحدة عامل VIII وترفع نشاط هذا العامل في دم المريض الذي وزنه ٦٠ كغم بحوالي ٥٪. تقدر كمية الراسب البارد المطلوب نقلها للمريض بعد قياس نشاطه في مرض الناعور أو قياس زمن النزف في مرض وليبراند.

يفضل عدم استخدام البلازما أو أي من مشتقاتها المجففة بالتفريغ والمجمعة من عدد كبير من المتبرعين لأنها تتميز بإمكانية نقل فيروسات التهاب الكبد الفيروسي وفيروسات نقص المناعة المكتسبة.

الفصل الحادي عشر

- تجربة كومب المباشرة وغير المباشرة وتطبيقاتها .
- الكشف عن الأجسام المضادة غير الكاملة

تجربة كومب (Coombs Test)

يستخدم مصل كومب المضاد للجلوبولين للكشف عن وجود الأجسام المضادة غير الكاملة (Ig-G) وتسمى التجربة في هذه الحالة بتجربة كومب (Coombs Test) التي تصنف إلى مباشرة (Direct) عندما تكون الأجسام المضادة غير الكاملة في سطح الخلايا الحمراء للمريض، وغير مباشرة (Indirct) عندما تكون الأجسام المضادة غير الكاملة في مصل المريض. وفي ما يلي خطوات التجربة.

أـ تجربة كومب المباشرة

(Direct Coomb's Test)

١ـ تضاف نقطتين من ٥٪ محلول خلايا المريض الحمراء بالمحلول الملحي إلى نقطتين من مصل كومب المضاد للجلوبولين في أنبوبة سنترفيوج مناسبة وتمزج محتوياتها جيداً وتعرض بعد خمسة دقائق للطرد المركزي بسرعة ١٥٠٠د/د لمدة دقيقة واحدة. يشير تكتل الخلايا الحمراء إلى وجود أجسام مضادة غير كاملة في سطحها.

٢ـ يتم اتباع نفس الخطوات على محلول خلايا حمراء Rh + ve و Rh-ve تم تعريض كل منها للأجسام المضادة Anti-D في أنبوبتين منفصلتين وذلك للمقارنة مع محلول خلايا المريض. يشير التكتل الضعيف للخلايا الحمراء Rh + ve في الأنبوبة الثانية إلى ضرورة استخدام مصل كومب جديد.

٣ـ يصعب الكشف عن الأجسام المضادة (Anti-A) و (Anti-B) غير الكاملة الموجدة على الخلايا الحمراء A و B في الأطفال حديثي الولادة. لذا يمكن الحصول على نتائج بشكل أفضل في مثل هذه الحالة بتعريض العينة لقوة الطرد المركزي بعد إضافة مصل كومب مباشرة.

٤ـ تكون نتيجة تجربة كومب المباشرة إيجابية في عينات فقر الدم التحللي المناعي الذاتي وفقر دم الأطفال حديثي الولادة (NBHD) ومضاعفات نقل الدم الناتجة عن عدم التوافق بين دم المريض والمتبرع.

ب ـ تجربة كومب غير المباشرة

(Indirect Coomb's Test)

١ـ يحضر محلول ملحي تركيزه ٥٪ لخلايا حمراء تحمل الأنتيجين المطلوب الكشف عن وجود أجسامه المضادة غير الكاملة مثل Kell و Duffy و D .

٢ـ يوضع نقطتين من المصل في أنبوبة طرد مركزي مناسبة ويضاف إليها نقطتين من محلول الخلايا الحمراء. يوضع مزيج الخلايا الحمراء والمصل الخاص بالمريض في حمام مائي بدرجة ٣٧م لمدة نصف ساعة إلى ساعتين بناء على قوة المصل المضاد وحساسيته. تغسل الخلايا الحمراء عند عدم تكتلها بالمحلول الملحي ثلاث مرات ويعدل تركيزها النهائي إلى حوالي ٥٪ ويضاف لها نقطتين من مصل كومب المضاد للجلوبولين. يعرض المزيج للطرد المركزي بعد خمسة دقائق لمدة دقيقة واحدة وبقوة ١٥٠٠ج /د. يشير تكتل الخلايا الحمراء إلى وجود الأجسام المضادة غير الكاملة في مصل المريض.

٣ـ لا يمكن اجراء تجربة كومب غير المباشرة على الخلايا الحمراء الإيجابية لتجربة كومب المباشرة. تستخدم تجربة كومب غير المباشرة في الكشف عن بعض الأنتيجينات مثل Kell و Kidd و Duffy والأنتيجين D الضعيف وفي عمليات الموافقة.

٤ـ قد تنشأ الأخطاء السلبية بسبب عدم فعالية مصل كومب المضاد للجلوبولين الذي يستنفذ عند تفاعله مع بقايا جلوبولين البلازما لعدم غسل الخلايا الحمراء بشكل كافي. كما قد تنشأ الأخطاء السلبية بسبب الافراط في زيادة أو نقص الخلايا الحمراء المضافة أو نقص فترة الحضانة.

في حين قد تنشأ الأخطاء الإيجابية بسبب البكتيريا في العينة أو وجود عدد كبير من الخلايا الشبكية أو بعض الشوائب الكيميائية مثل سيليكا الزجاج.

الكشف عن الأجسام المضادة Anti-D

(١) بمساعدة مصل كومب المضاد للجلوبولين

تستخدم تجربة كومب غير المباشرة للكشف عن الأجسام المضادة Anti-D كما يلي :-

١ـ توضع نقطة من مصل المريض في انبوبة طرد مركزي ونقطة أخرى في أنبوبة

ثانية. يضـاف للأنبـوبـة الأولى نقـطتين من محلول ٥٪ خلايا حمراء O+ ve وللأنبوبة الثانية نقطتين من محلول ٥٪ خلايا حمراء O-ve .

٢ـ توضع الأنبوبتين بعد مزج محتوياتها لمدة ساعتين في حمام مائي بدرجة ٣٧م ويتم استبعاد التكتل في الأنبوبتين.

٣ـ تغسل الخلايا الحمراء عند عدم تكتلها في الخطوة السابقة ثلاث مرات بالمحلول الملحي ويعدل تركيزها إلى حوالي ٥٪. يضاف نقطتين من مصل كومب المضاد للجلوبولين إلى كل انبوبة وتمزج محتوياتها جيداً ومن ثم تعرض للطرد المركزي بعد خمسة دقائق بدرجة ٢٢ـ٢٥م بسرعة ٥٠٠ د/ د لمدة دقيقة واحدة.

٤ـ يشير تكتل الخلايا الحمراء في الأنبوبة الأولى وعدم تكتلها في الأنبوبة الثانية قبل إضافة مصل كومب إلى وجود الأجسام المضادة Anti-D الكاملة في حين يشير تكتلها في الأنبوبة الأولى وعدم تكتلها في الثانية بعد إضافة مصل كومب إلى وجود الأجسام المضادة Anti-D غير الكاملة. كما يشير عدم التكتل في الأنبوبتين قبل وبعد إضافة مصل كومب إلى عدم وجود أي من الأجسام المضادة Anti-D .

(٢) بمساعدة الأنزيمات التالية

أـ محلول منظم البابين (Papain Buffer) :ـ

١ـ توضع نقطتين من مصل المريض في انبوبتي طرد مركزي مناسبة بشكل منفصل كل على حدة. يضاف إلى الأنبوبة الأولى محلول خلايا حمراء O+ ve وللأنبوبة الثانية محلول خلايا حمراء O-ve . بعد تفاعلها مع أنزيم بابين (Papain) .

٢ـ توضع الأنابيب في حمام مائي بدرجة ٣٧م ولمدة نصف ساعة.

٣ـ يشير عدم تكتـل الخـلايا الحمراء في الأنبوبتين إلى غياب الأجسام المضادة Anti-D من مصل المريض. كما يشير تكتل الخلايا الحمراء في الأنبوبة الأولى وعدم تكتلها في الأنبوبة الثانية إلى وجود الأجسام المضادة Anti-D في مصل المريض.

٤ـ يمكن استبعاد وجود الأجسام المضادة Anti-c, Anti-E, Anti-C و Anti-e باستبدال الخلايا الحمراء Rh+ve بخلايا حمراء تحمل الأنتيجين المناسب.

٥ـ قد تتكتل الخلايا الحمراء في الأنبوبتين في إحدى الحالات التالية:ـ

أ ـ وجـود الأجسام المضادة الذاتية التي يمكن الكشف عنها بتجربة كومب

المباشرة على الخلايا الحمراء.

ب ـ عدم صلاحية الخلايا الحمراء المستخدمة.

جـ ـ تلوث العينة بالجراثيم.

د ـ وجود أجسام مضادة غير متوقعة.

تتفاعل الخلايا الحمراء مع محلول منظم البابين كما يلي :ـ

١ـ يضاف ١ ملل من محلول منظم البابين إلى حوالي ٠,٥ ملل معلق خلايا حمراء مكدسة في انبوبة طرد مركزي ويوضع المزيج في حمام مائي بدرجة ٣٧م لمدة نصف ساعة بحيث تمزج عدة مرات خلال فترة الحضانة.

٢ـ تعرض محتويات الأنبوبة للطرد المركزي بسرعة ١٥٠٠ د/د لمدة دقيقة واحدة وتغسل الخلايا الحمراء ثلاث مرات بالمحلول الملحي بعد فصلها عن محلول البابين ويعدل تركيزها إلى حوالي ٥٪ وتستخدم خلال ٢٤ ساعة.

ملاحظة هامة :ـ

يجب أن لا تزيد فترة حضانة الخلايا الحمراء مع انزيم البابين عن نصف ساعة لأن ذلك قد يسبب اخطاء ايجابية. كما يمكن استبدال انزيم البابين بأي من التريبسين (Trypsin) أو البروميلين (Bromelin) أو الفيسين (Ficin) .

ب ـ محلول منظم التريبسين (Trypsin Buffer) :ـ

تفاعل انزيم التريبسين مع الخلايا الحمراء :ـ يوضع في الأنبوب رقم ١ حجم من خلايا حمراء O+ve مغسولة بالمحلول الملحي وفي الأنبوبة رقم ٢ حجم مساوٍ من خلايا حمراء O-ve مغسولة بالمحلول الملحي. يضاف إلى كل انبوبة ثلاثة أضعاف حجم الخلايا محلول منظم التريبسين. تمزج محتويات الأنبوبتين وتوضع في حمام مائي بدرجة ٣٧م لمدة ١/٢ ـ ٣/٤ ساعة. يعاد غسل الخلايا الحمراء بكمية كافية من محلول ملحي بدرجة ٣٧م ويعاد تعليق الخلايا الحمراء بتركيز ٤٪ في المحلول الملحي الدافىء (٣٧م). تستخدم الخلايا الحمراء بعد تفاعلها مع منظم التريبسين في الكشف عن الأجسام المضادة Anti-D غير الكاملة كما يلي :ـ

١ـ يوضع في انبوبتين ١ ، ٢ حجم واحد من مصل المريض وتحضن في حمام مائي بدرجة ٣٧م لمدة ١٠ دقائق قبل إضافة معلق الخلايا الحمراء المتفاعلة مع التريبسين والتي تحمل الأنتيجين Rh في أحدها والخالية منه في الأنبوبة الثانية. تمزج محتويات

الأنبوبتين ١، ٢ وتحضن في حمام مائي بدرجة ٣٧م لمدة ساعة. يتم الكشف عن تكتل الخلايا الحمراء في الأنبوبتين. يشير التكتل في الأنبوبة رقم ١ وغيابه في الأنبوبة الثانية إلى وجود أجسام مضادة Anti-D غير كاملة. كما يشير عدم التكتل في الأنبوبتين إلى غياب الأجسام المضادة Anti-D غير الكاملة. تتكتل الخلايا الحمراء في الأنبوبتين بسبب احتواء المصل على أجسام مضادة ذاتية يمكن التخلص منها بحضن مصل المريض مع خلاياه الحمراء بعد تفاعلها مع التريبسين.

جـ- محلول منظم البروميلين (Bromelin Buffer) :-

تفاعل انزيم البروميلين مع الخلايا الحمراء :- يضاف حجم من منظم البروميلين إلى حجم مساوٍ من معلق ٥٠٪ خلايا حمراء مغسولة في انبوبتين ١، ٢ بحيث توضع O+ ve في رقم ١ وO-ve في رقم ٢. تمزج محتويات الأنابيب وتوضع في حمام مائي بدرجة ٣٧م لمدة ٢٠ دقيقة. تغسل الخلايا الحمراء بمحلول ملحي دافىء (٣٧م) ثلاث مرات. يحفظ معلق الخلايا الحمراء بدرجة ٣٧م أو بدرجة ٤م. يجب رفع درجة حرارة معلق الخلايا إلى ٣٧م قبل استخدامه في الكشف عن الأجسام المضادة غير الكاملة. كما يلي :-

يضاف إلى حجم من مصل المريض في انبوبتين ١، ٢ في درجة ٣٧م حجم مساوٍ من معلق ٢٪ خلايا O+ ve في ١ وO-ve في ٢ بعد تفاعلها مع البروميلين. تمزج محتويات الأنابيب وتحضن في ٣٧م لمدة ١٥-٢٠ دقيقة تعرض بعدها للطرد المركزي بقوة ١٠٠٠ج/د قبل الكشف عن تكتل الخلايا الحمراء فيها.

د- محلول منظم الفيسين (Ficin Buffer) :-

تفاعل انزيم الفيسين مع الخلايا الحمراء:- يحضر منظم الفيسين بإضافة حجم محلول الفيسين إلى ٣٩ حجم من منظم هندري. يوضع المزيج في درجة ٣٧م لعدة دقائق قبل إضافة حجم من مكدس الخلايا الحمراء O+ ve في رقم ١ و O-ve في رقم ٢. تمزج محتويات الأنابيب وتوضع في ٣٧م لمدة ١٥ دقيقة بالضبط. تغسل الخلايا الحمراء وتحفظ في ٣٧م حتى الاستعمال في الكشف عن الأجسام المضادة غير الكاملة كما يلي :-

يوضع في الأنابيب ١، ٢ حجم من مصل المريض في درجة ٣٧م لمدة ١٠ دقائق. يضاف إلى الأنبوبة رقم ١ معلق خلايا O+ ve (٥٪) وإلى الأنبوبة رقم ٢ معلق خلايا O-ve (٥٪) بعد تفاعلها مع الفيسين. تمزج محتويات الأنابيب وتوضع في ٣٧م لمدة ساعة قبل الكشف عن التكتل. يجب التأكد من دقة التوقيت.

(٣) بمساعدة محلول الألبومين (Bovine)

يستخدم محلول الألبومين في الكشف عن الأجسام المضادة Anti-D كما يلي :-

١- توضع نقطة من مصل المريض في انبوبة طرد مركزي ونقطة أخرى في انبوبة ثانية. ويضاف إلى كل انبوبة نقطة من محلول ٥٪ خلايا حمراء O + ve في محلول ٣٠٪ البومين ونقطة من محلول ٥٪ خلايا حمراء O-ve في محلول ٣٠٪ ألبومين.

٢- تعرض محتويات الأنابيب بعد مزجها جيداً للطرد المركزي لمدة ٣ دقائق وبسرعة ١٢٠٠د/د ويتم التأكد من تكتل الخلايا الحمراء. توضع الأنابيب لمدة ساعة في حمام ماء بدرجة ٣٧م عند عدم تكتلها في الخطوة السابقة وتعرض للطرد المركزي بسرعة ٥٠٠د/د لمدة دقيقة واحدة. يشير تكتل الخلايا الحمراء في الأنبوبة الأولى وعدم تكتلها في الأنبوبة الثانية في أي من المراحل السابقة إلى وجود الأجسام المضادة Anti-D .

الكشف عن الأجسام المضادة Anti-D

بواسطة الشرائح الزجاجية

يمكن استخدام الشرائح الزجاجية للكشف عن وجود الأجسام المضادة Anti-D كما يلي :-

١- تقسم الشريحة الزجاجية إلى نصفين بقلم شمعي وتوضع نقطة من مصل المريض في مركز كل نصف. يضاف إلى النقطة الأولى نقطة من محلول ٥٠٪ خلايا حمراء O+ ve في مصلها وإلى النقطة الثانية نقطة من ٥٠٪ محلول خلايا حمراء O-ve في مصلها (أو محلول الألبومين ٢٢٪).

٢- تمزج نقطة الخلايا الحمراء مع نقطة مصل المريض بعود خشبي بحيث لا تتجاوز الخط الشمعي الفاصل بين نصفي الشريحة. توضع الشريحة فوق صندوق حراري بدرجة ٤٠م وتقلب لمدة ٣ دقائق.

٣- يشير تكتل الخلايا الحمراء O + ve مع عدم تكتل الخلايا الحمراء O-ve إلى وجود الأجسام المضادة Anti-D كما يشير عدم التكتل في نصفي الشريحة إلى عدم وجود الأجسام المضادة Anti-D .

الكشف عن الأجسام المضادة للخلايا البيضاء

(Leucoagglutenins)

تعتبر تجربة (Complement Consumption Test) أهم الوسائل المستخدمة في الكشف عن وجود الأجسام المضادة للخلايا البيضاء وذلك بحضن مصل كومب المضاد للجلوبولين مع الخلايا البيضاء التي سبق وتفاعلت مع المصل المراد فحصه. يتبع ذلك تحديد مقدار التناقص في قوة مصل كومب المضاد للجلوبولين عن طريق التفاعل مع خلايا حمراء تحتوي على أنتيجين Rho(D) سبق وتفاعلت مع الأجسام المضادة للأنتيجين Rho(D) . يدل الأنخفاض الملموس في قوة مصل كومب على وجود الأجسام المضادة للخلايا البيضاء. يمكن الحصول على الخلايا البيضاء معلقة في البلازما الخالية من الخلايا الحمراء بإضافة محلول يساعد على تكوين التكتل الكاذب إلى عينة دم مسحوبة على (EDTA) . تعمل المركبات الكيميائية الكبيرة الوزن الجزيئي، مثل الديكستران (Dextran) أو PVP= Polyvenyl Pyrolidone ، على زيادة تكوين التكتل الكاذب، كما يمكن الكشف عن وجود الأجسام المضادة للخلايا البيضاء بالطريقة التالية:-

١- يوضع ٠,١ ملل من المصل المطلوب فحصه في انبوبة كان (Kahn) وتوضع في حمام مائي بدرجة ٥٦م لمدة ٣٠ دقيقة. كما توضع في الحمام المائي انبوبة اخرى تحتوي على ٠,١ ملل من مصل طبيعي.

٢- يضاف إلى محتويات الأنبوبتين ٠,٠٥ ملل محلول خلايا بيضاء وتوضع بعد مزجها لمدة ٧٥ دقيقة بدرجة ٣٧م.

٣- يتم التخلص من بقايا الخلايا الحمراء بتحللها عن طريق إضافة ٠,١ ملل من محلول ٣٪ حامض الأسيتيك ومزجها جيداً.

توضع رواسب الأنبوبتين على شريحة زجاجية وتفحص تحت المجهر بالعدسة الشيئية. يشير تكتل الخلايا البيضاء إلى وجود الأجسام المضادة لها في مصل المريض.

قياس تركيز الأجسام المضادة Anti-D و Anti-B
في مصل المتبرع العام (O)

نظراً لمساهمة الأجسام المضادة Anti-A و Anti-B في بعض حالات تحلل دم الأطفـال حديثي الولادة (N.B.H.D) فمن الضروري تجنب نقل دم المتبرع العام الذي يزيد تركيز (Titre) الأجسام المضادة لأنتيجينات A و B عن ٥٠ وذلك بفحص مصله قبل عملية النقل أثناء الموافقة كما يلي :-

١- يوضع ٤,٩ ملل محلول ملحي (N.S) في انبوبة اختبار مناسبة ويضاف لها ٠,١ من مصل المتبرع العام وتمزج جيداً.
٢- توضع نقطة من مصل المتبرع العام المخفف في انبوبة طرد مركزي ونقطة اخرى في انبوبة ثانية. يضاف نقطة من محلول ٥٪ خلايا حمراء A إلى الأنبوبة الأولى ونقطة من محلول ٥٪ خلايا حمراء B إلى الأنبوبة الثانية.
٣- تعرض محتويات الأنبوبتين للطرد المركزي بعد حوالي ١٥ دقيقة بدرجة ٢٢-٢٥م بسرعة ١٢٠٠د/د لمدة دقيقة واحدة. يتم استبعاد حدوث تكتل الخلايا الحمراء في الأنبوبتين.
٤- ينقل دم المتبرع العام للمرضى عند عدم تكتل الخلايا الحمراء في الأنبوبتين ويسجل في سجلات بنك الدم بـ Low Titred Universal Donor . كما يجب عدم نقل الـدم عنـد تكتـل الخـلايا الحمراء في أي من الأنبوبتين بناء على المجمـوعـة الدموية للمريض ويسجل في سجلات بنك الدم بـ High Titred Universal Donor .

- قياس تركيز الأجسام المضادة Anti-D

يقاس تركيز الأجسام المضادة Anti-D في مصل الحوامل المصنفات بـ Rh-ve بعـد التأكد من وجودها لتشخيص ومتابعة فقر الدم التحللي عند الأطفال حديثي الولادة (N.B.H.D) . تخفف عينة المصل بشكل متسلسل بنسبة $\frac{1}{2}$ ، $\frac{1}{4}$ ، $\frac{1}{8}$ ، $\frac{1}{16}$ الخ . . بالمحلول الملحي تمهيداً للمعايرة المصلية. يضاف إلى كل انبوبة نقطة من محلول ٥٪ خلايا حمراء O+ ve وتمزج جيداً وتوضع في حمام مائي بدرجة ٣٧م لمـدة ساعتين. تغسـل الخـلايا الحمـراء عند عدم تكتلها بالخطوة السابقة بالمحلول الملحي ثلاث مرات ويعدل تركيزها إلى حوالي ٥٪ مرة أخرى.يضاف إلى

كل انبوبة نقطة من مصل كومب المضاد للجلوبولين وتعرض بعد خمسة دقائق للطرد المركزي لمدة دقيقة واحدة وبسرعة ٥٠٠د/د. يتم التأكد من تكتل الخلايا الحمراء في جميع الأنابيب. يشير معكوس أعلى تخفيف يظهر فيه التكتل المصلي إلى تركيز (Titre) الأجسام المضادة Anti-D في مصل المريض الحامل.

كما يمكن الاستعانة بأنزيمات البابين والتريبسين والبروميلين والفيسين وبالالبومين لقياس تركيز الأجسام المضادة Anti-D غير الكاملة.

الفصل الثاني عشر

- المجموعات الدموية والطب الشرعي

Forensic Application of Blood groups

- استبعاد الأبوة
- التعرف على البقع الحيوية

استبعاد الأبوة

Exclusion of Parantage

تستخدم أنتيجينات المجموعات الدموية في استبعاد الأبوة. تخضع أنتيجينات المجموعات الدموية لقوانين ميندل الوراثية التي يمكن ايجازها كما يلي :-

١- يرث الطفل عامل وراثي واحد من والده وآخر من والدته لكل صفة وراثية مثل أنتيجينات المجموعات الدموية.

٢- يمكن التميز بين العوامل الوراثية المتجانسة عن غير المتجانسة لبعض الأنتيجينات في حين يستحيل التميز بينها في البعض الآخر.

٣- لا يمكن أن يحمل الطفل أي صفة وراثية أو أنتيجين أو مجموعة دموية ما لم توجد عواملها الوراثية في أحد الوالدين أو كليهما.

٤- لا يمكن استبعاد أي أنتيجين من الطفل إذا كانت عوامله الوراثية متجانسة في أحد والديه.

٥- إذا كانت العوامل الوراثية لأي أنتيجين غير متجانسة ويمكن إثبات وجود كروموسوماتها بالتجارب المعتمدة في أي من الوالدين فيجب وجود أحدها في الطفل.

يوضح الشكل رقم (١٨) كيفية تطبيق قوانين ميندل على نظام ABO لاستبعاد الأبوة. تشير المربعات المظللة إلى المجموعات الدموية المستبعدة وغير المظللة إلى المجموعات الدموية المحتملة.

لذا يمكن صياغة قوانين ميندل الخاصة بنظام ABO كما يلي :-

١- لا تظهر أنتيجينات A و B في الخلايا الحمراء الخاصة بأي طفل ما لم تكن موجودة في أي من والديه.

CHILDREN \ PARENTS	O × O	O × A, A × A	B × O, B × B	B × A	AB × O	AB × A, AB × B, AB × AB
O	O	O	O	O	O	O
A	A	A	A	A	A	A
B	B	B	B	B	B	B
AB	AB	AB	AB	AB	AB	AB

شكل رقم (١٨)

٢ـ لا يمكن أن تكون المجموعة الدموية لأي طفل O إذا كانت المجموعة الدموية لأحد والديه AB . كما لا يمكن أن تكون المجموعة الدموية لأي طفل AB إذا كانت المجموعة الدموية لأي من والديه O .

٣ـ لا يمكن أن يحمـل الطفل الأنتيجين A_2 إذا كانت مجموعة أحد والديه A_1B والعكس صحيح.

٤ـ إذا كانت العوامل الوراثية الخاصة بالأنتيجين A أو B في أحد الوالدين متجانسة فلا بد من ظهور الأنتيجين في خلايا الطفل.

لم تسجـل أية حالـة شاذة عن القانون الأول سوى حالتين كانت المجموعة الدموية للأطفال O وللأمهات A_2B .

يوضـح الشكل رقم (١٩) كيفية تطبيق قوانين ميندل الوراثية على نظام MN لاستبعاد الأبوة حيث تشير المربعات المظللة إلى المجموعات الدموية المستبعدة وتشير المربعات غير المظللة إلى المجموعات الدموية المحتملة.

لذا يمكن صياغة القوانين الوراثية الخاصة بنظام MN كما يلي :ـ

١ـ لا يحمل الطفل أنتيجينات M و N ما لم تتواجد في دم أحد والديه.

٢ـ لا يمكن أن تكون المجموعة للطفل M إذا كانت المجموعة الدموية لأحد والديه N . كما لا يمكن أن تكون المجموعة للطفل N إذا كانت المجموعة الدموية لأحد والديه M .

	PARENTS					
	M × M	M × MN	MN × MN	N × MN	M × N	N × N
CHILDREN	M	M	M	M	M	M
	MN	MN	MN	MN	MN	MN
	N	N	N	N	N	N

الشكل رقم (١٩)

كما يمكن استخدام أنتيجينات نظام Rh-Hr لاستبعاد الأبوة حيث يتم التأكد من وجود الأنتيجينات D و C و E و c و e إذا توفرت امصالها المضادة المعتمدة. يمكن استنتاج القوانين الوراثية الأساسية والخاصة بنظام Rh-Hr كما يلي :-

١- لا يمكن أن تظهر أي من أنتيجينات D و C و E و c و e في أبن طفل ما لم تتواجد في أحد والديه.

٢- لا يمكن أن يحمل الطفل الأنتيجين c إذا كان الأنتيجين C موجوداً في أحد الوالدين بشكل متجانس. كما لا يمكن أن يحمل الطفل الأنتيجين C إذا كان الأنتيجين c موجوداً في أحد والديه بشكل متجانس.

٣- كما لا يمكن أن يحمل الطفل الأنتيجين E إذا كان الأنتيجين e موجوداً في أحد والديه والعكس صحيح.

تقدر إمكانية استبعاد الأبوة بناء على أنتيجينات ABO بحوالي ٢٥٪ وعلى أنتيجينات ABO و MN بحوالي ٣١٪ وبناء على أنتيجينات ABO و MN و Rh-Hr بحوالي ٥٠٪.

تزيد إمكانية استبعاد الأبوة عند الاستعانة بالمزيد من الأنتيجينات والصفات الوراثية وتصل إلى ٦٦٪ عند استخدام أنتيجينات ABO و MNSs و RH-Hr و Fy^a

و K و Lu و JK[a] و Gm(1) . كمـــا قد تستعين بعض المختبــرات بالكشف عن الـهــابتـــوجـلوبــين والأنــتـيجـين Gc وبـعض انــزيـمــات الـخــلايا الحمــراء (Acid Phophotase) و HLA . لذا ترتفـع إمكـانية الاستبعاد إلى حوالي ٩٥٪. يوضـح الجـدول رقم (٢٥) احتمـالات استبعاد الأبوة بناء على مختلف الصفات الوراثية السابقة.

	Probability of exclusion by:- Individual systems	Combined systems
Red cell antigens		
MNSs	0.321	
Rh	0.280	
ABO	0.176	
Duffy	0.048	
Kidd	0.045	
Kell	0.033	
Lutheran	0.033	0.657
Serum proteins		
Hp	0.175	
Gc	0.145	
Gm[1]	0.065	0.341
Red cell enzymes*		
EAP	0.210	
GPT	0.190	
PGM	0.145	
EsD	0.090	
AK	0.045	
ADA	0.045	
6 PGD	0.025	0.558
Total combined systems		0.901

*EAP, Erythrocyte acid phosphatase; GPT, glutamate-pyruvate transaminase; PGM, phosphoglucomutase; EsD, esterase D; AK, adenylate kinase; ADA, adenosine deaminase; 6-PGD, 6-phosphogluconate dehydrogenase.

جدول رقم (٢٥)

يجب أن يعهد بالتجارب الخاصة لاستبعاد الأبوة إلى فني متمرس بأعمال بنك الدم. ويجب اتخاذ كافة الاجرآت اللازمة للتأكد من هوية الأب المحتمل والطفل المشكـوك في نسبه ومطابقتها مع من تم الكشف عليهم وذلك بالاستعانة ببصمة إبهامهم في كل مرة يجري لهم فحص خاص باستبعاد الأبوة. كما يجب التأكد من صلاحية الأمصال المضادة والأنتيجينات المستخدمة في التجارب الخاصة باستبعاد الأبوة باجراء نفس التجارب على عينات قياسية معلومة.

التعرف على العينات الحيوية

Identification of Biostains

يجب استخدام التجارب المخبرية الشديدة الحساسية والمعتمدة في التعرف على البقع الحيوية لأن ما قد يتوفر منها قليل نسبياً. يتم التعرف على طبيعة البقعة قبل الشروع في الكشف عن مجموعتها الدموية لمقارنتها مع العينات المجموعة من المشبوهين.

تعتبر البقع الدموية أكثر شيوعاً من بقع السائل المنوي والإفرازات المهبلية وإفرازات القناة الهضمية واللعاب. تتميز البقع الدمويةَ بنشاط محسوس لأنزيم البيروكسيديز الذي يمكن اثباته بمساعدة البنزيدين (Benzedine) أو الفنيول فيثالين (Kastle-Meyer) . أما السائل المنوي والإفرازات المهبلية فتتميز بنشاط محسوس لانزيم الفسفوتيرز الحامضي (Acid Phosphatase) ويتم التفريق بينهما إما بظهور الحيوانات المنوية أو بالترحيل الكهربائي في حالة انعدامها (Aspermia) . في حين يمكن إثبات البقع اللعابية عن طريق النشاط المحسوس لأنزيم الاميليز (Amylase) وظهور الخلايا الطلائية الفمية. تتميز الإفرازات المهبيلة بخلوها من أي أثر لأنزيم الاميليز وبظهور الخلايا الطلائية المسطحة.

التأكد من بقعة الدم

تستخدم الأمصال المضادة لبروتينات مصل الأنسان لاستبعاد كون البقعة الدموية تخص أحد الحيوانات أو الطيور كالكلب والقطة والثور والغنم والدجاج إلخ. كما يمكن استخدام الأمصال المضادة الخاصة ببروتينات مصل كل من الحيوانات المحتملة في التأكد من هوية المصدر. يكفي في معظم الحالات الكشف عن دم الإنسان باستخدام المصل المضاد لجلوبولين الإنسان (AHG) في أي من الطرق التالية :-

١- **تجربة الحلقة (Ring Test)** :- تستبعد بقع دم الإنسان بوضع حجم من مستخلص البقعة الصافي (١-٢ نقطة) فوق حجم مساوٍ من المصل المضاد لجلوبولين الإنسان AHG في أنبوب شعري أو أنبوب كان. يشير ظهور حلقة راسب بيضاء في سطح التماس إلى وجود دم الإنسان في البقعة.

٢- **نفاذ المصل المضاد للجلوبولين (AHG Consumption Test)** :- تعتمد هذه الطريقة على نقص تركيز المصل المضاد (AHG) عند خلطه مع مستخلص البقعة الدموية التي تحتوي على دم الإنسان. يستدل على نقص تركيز AHG بمعايرته مع محلول خلايا حمراء O+ ve سبق واكتست بالأجسام المضادة Anti-D .

٣- **الترحيل الكهربائي المناعي في هلام الأجار (Agar Gel Immuno electrophoresis)** :- تستخدم هذه الطريقة عند الحاجة للتأكد من هوية البقعة الدموية والتعرف على مصدرها الحيواني. تتحرك بروتينات العينة باستثناء جاما جلوبولين والأجسام المضادة باتجاه القطب الموجب (Anode) في حين تتحرك الأجسام المضادة والجاما جلوبولين باتجاه القطب السالب (Cathode) . تتلاقى البروتينات مع أجسامها المضادة بين القطبين السالب والموجب. يشير ظهور خط أبيض إلى اكتمال التفاعل المناعي بينها. يوضح الشكل رقم (٢٠) مخطط التعرف على البقع الدموية بواسطة الترحيل الكهربائي المناعي.

Key:
=anti-human
=anti-cow
=anti-pig
=anti-sheep

+ test		positive control		negative control —
1		2		3
1		3		2
1		4		2
1		5		2

شكل رقم (٢٠)

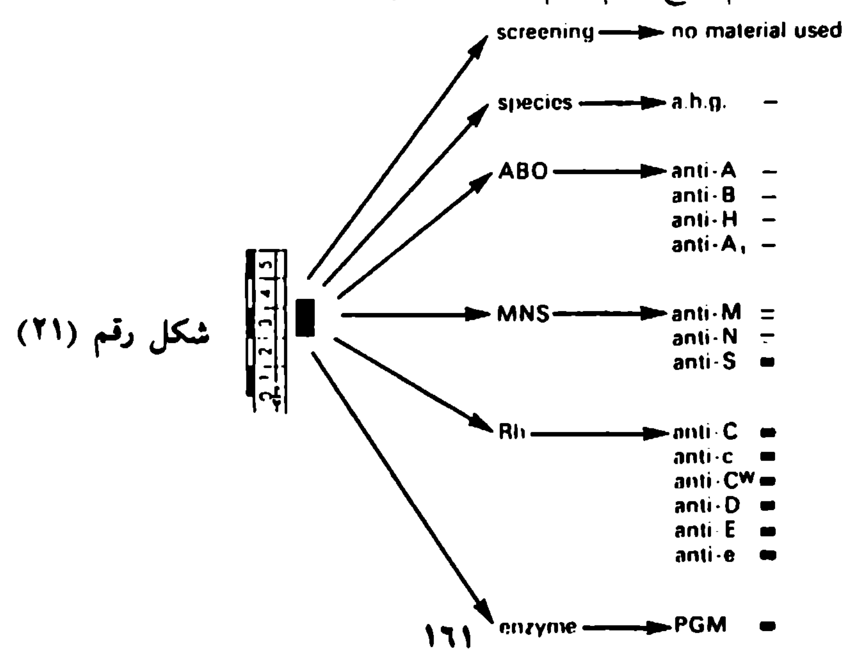
التعرف على أنتيجينات البقع الدموية

تفحص البقع الدموية بعد التأكد من أنها خاصة بإنسان للتأكد من وجود أنتيجينات الخلايا الحمراء A و B و H و M و N و S و s و D و C و E و c و e . . . الخ وبروتينات المصل Gm و Km . تتميز بروتينات المصل Gm و Km بأنها فعالة في التعرف على بقعة الدم ومطابقتها مع دم المشبوهين لأنها ثابتة بشكل ملموس ولا تتأثر بالحرارة ويمكن إثبات وجودها بعد زمن طويل نسبياً.

تفقد انتيجينات المجموعات الدموية خصائصها المميزة بسرعات مختلفة تتناسب عكسياً مع سرعة جفافها. لذا يمكن الكشف عن ABH خلال عشر سنوات وعن أنتيجينات Rh-Hr خلال سنتين وبقية الأنتيجنات مثل M و N و S و s و K . . خلال عدة شهور من جفاف البقع الدموية.

لا تستخدم التجارب التي تعتمد على التكتل المباشر في الكشف عن أنتيجينات البقع الدموية بسبب إمكانية تحلل الخلايا الحمراء واختفائها. كما أن تجارب تعطيل الأجسام المضادة وامتصاصها غير فعالة لعدم حساسيتها بما فيه الكفاية للكشف عن كميات قليلة من الأنتيجينات باستثناء Gm و Km التي يمكن إثبات وجودها بالتعطيل.

تعتبر تجربة الغسل الدقيقة (microelution) الخاصة بالأجسام المضادة الفائضة عن أنتيجينات البقع الدموية الممثلة بعدة خيوط من القماش الملوث أو ما يعادلها من السطوح الأخرى أكثر فعالية وأشد حساسية من التجارب السابقة. يستخدم في هذه الطريقة محلول خلايا حمراء في المحلول الملحي بتركيز يقدر بحوالي ٠,٠٥-١٪ للتفاعل مع فائض الأجسام المضادة. كما يمكن زيادة فعالية محلول الخلايا الحمراء بمعاملتها بالأنزيمات عند الحاجة مما يسمح بزيادة حساسية التجربة وبالتالي فحص البقع الدموية الصغيرة الحجم (٠,٥سم٢). يوضح الشكل رقم (٢١) أصغر حجم لبقع الدم يلزم للكشف عن مختلف الأنتيجينات.



شكل رقم (٢١)

تجمع بقع الدم من السطوح الصلبة كالسكاكين بواسطة القطن المبلل بالماء.

التعرف على أنتيجينات البقع الأخرى

تظهر أنتيجينات ABH في السائل المنوي وإفرازات المهبل والغدد اللعابية والقناة الهضمية الخاصة بالمفرزين بكميات محسوسة وبشكل فعال وبكميات قليلة نسبياً في السوائل الحيوية الأخرى كالدموع والعرق والبول. أما في غير المفرزين فتظهر أنتيجينات ABH بكميات غير محسوسة في إفرازاتهم ويمكن الكشف عنها بواسطة تجربة الغسل الدقيقة (microelution).

تمثل بقع السائل المنوي النقية أو الملوثة بالإفرازات المهبلية معظم البقع غير الدموية التي ترد إلى مختبر البحث الجنائي لأن البقع اللعابية قليلة نسبياً. يمكن الكشف عن أنتيجينات ABH بطريقة التعطيل (Inhibition) وبطريقة الغسل الدقيقة تعتمد النتائج عند تطابقها بالطريقتين. يجب التحري عن الأنتيجينات في مستخلص بقع السائل المنوي واللعاب بعد تخفيفها عدة مرات مثل $\frac{١}{٥}$ و $\frac{١}{١٠}$ و $\frac{١}{٢٠}$ لاستبعاد الأنتيجينات المحتمل وجودها بسبب تلوث العينة بالجراثيم.

التعرف على أنتيجينات الخلايا النسيجية

يتم التعرف على أنتيجينات ABH في أي نسيج بتجارب التعطيل أو الغسل الدقيق أو التكتل المختلط (Mixed Agglutination) الذي استخدمه كومب ١٩٥٦ للكشف عن أنتيجينات ABH في خلايا تجويف الفم والجلد والصفائح الدموية التي لا تتكتل بشكل مناسب. يوضح الشكل رقم (٢٢) مبدأ عمل التكتل المختلط إذ يلاحظ إمكانية الكشف عن أنتيجينات الخلايا النسيجية عندما يوجد الأنتيجين في محلول الخلايا الحمراء المستخدم في التجربة. تقوم الأجسام المضادة للأنتيجين بربط الخلايا الحمراء حول الخلايا النسيجية على شكل وردة.

الشكل رقم (٢٢)

الباب الثاني

التجارب العملية الخاصة ببنك الدم
Blood Bank Practice

الفصل الأول

عينات بنك الدم

- الكشف عن المجموعات الدموية

(Manual Blood Grouping)

ABO

Rh-Hr

MNs

Kell

Duffy

- الكشف الآلي عن المجموعات الدموية

(Blood Auto grouping)

عينات بنك الدم

يفضـل استخدام عينات الدم المتجلطة في تجارب بنك الدم وذلك لتجنب إمكانية حدوث أخطاء عند استخدام البلازما إذ قد تعتبر الجلطات الدموية الدقيقة تكتـل مصلي حقيقي. كما أن الجلطة قادرة على امتصاص الكميات القليلة من الأجسام المضادة الباردة التي يمكن تواجدها في دم الإنسان الطبيعي أثناء حفظ عينـاتـه بدرجـة ٤-٦م. لذا يجب فصل الجلطة الدموية بعد تكوينها مباشرة عند الحاجة إلى الكشف عن الأجسام المضادة الباردة.

تستخدم العينات المتجلطة في بنك الدم إذا حفظت بدرجة ٤-٦°م لمدة خمسة أيام. كما يمكن الكشف عن الأجسام المضادة في عينات المصل خلال عدة أسابيع إذا حفظت بدرجة ٤-٦م وخلال سنتين إذا حفظت العينة مجمدة. يجب الكشف عن أنتيجينات المجموعات الدموية في عينات الدم غير المتجلطة خلال ٢٤ ساعة من سحبها. يفضل استخدام المصل بدل البلازما للكشف عن الأجسام المضادة. يمكن غسل الخلايا الحمراء من دم ثقب الجلد بالمحلول الملحي في انبوب طرد مركزي واستخدامها للكشف عن المجموعات الدموية.

يقترح المؤلف تحضير عينات المصل خلال ١٠ دقائق فقط باتباع الخطوات التالية:-

١- تعرض عينة الدم بعد سحبها مباشرة لقوة طرد مركزي ٣٠٠٠د/د في أنابيب خالية من مانع التجلط لمدة ٣ دقائق.

٢- يسمح لطافي العينة الذي يمثل البلازما بتكوين جلطة فيبرين خالية من الخلايا الدموية خلال ٥-٧ دقائق.

٣- تضغط شبكة خيوط الفيبرين البلازمية بواسطة قضيب زجاجي جاف ونظيف أو بواسطة عود خشبي على سطح الخلايا الحمراء.

٤- تعرض العينة مرة أخرى للطرد المركزي ٣٠٠٠د/د لمدة ٣ دقائق للمساعدة على

تكديس شبكة خيوط الفيبرين البلازمية على هيئة قرص يفصل بين الخلايا الحمراء والمصل.

الكشف عن المجموعة الدموية (ABO)

يمكن الكشف عن المجموعة الدموية بناء على أنتيجينات نظام ABO مباشرة (Direct) حيث تفحص الخلايا الحمراء للمريض أو بطريقة غير مباشرة (Reverse = Indirect) حيث تفحص عينـات المصـل. وفي ما يلي خطوات الكشف عن المجموعة الدموية بناءً على نظام ABO بشكل مباشر وغير مباشر.

١- يفصـل مصـل العينـة المتجلطة ويحضـر محلول من خلاياهـا الحمراء بتركيز ٢-١٠٪ في المحلول الملحي الطبيعي (N.S) .

٢- يستخـدم لكـل عينـة انبـوبتين (٧٥ × ١٠ ملم) للفحص المبـاشـر وانبـوبتين (٧٥ × ١٠ ملم) للفحص غير المباشر.

٣- يتم الفحص المباشر بوضع نقطة من المصل المضاد للأنتيجين A في الأنبوبة الأولى ونقطة من المصل المضاد للأنتيجين B في الأنبوبة الثانية ويضاف لكل منها نقطة من محلول الخلايا الحمراء. يتم التأكد من تكتل الخلايا الحمراء أو عدمه بعد مزج محتويات الأنابيب وتكون النتائج كما يلي:-

أ- تصنف الخـلايا الحمراء بالمجموعة الدموية A إذا تكتلت مع المصل المضاد Anti-A .

ب- تصنف الخلايا الحمراء بالمجموعة الدموية B إذا تكتلت مع المصل المضاد Anti-B .

جـ- تصنف الخلايا الحمراء بالمجموعة الدموية AB إذا تكتلت مع المصل المضاد Anti-A . وبالمصل المضاد Anti-B .

د- تصنف الخلايا الحمراء بالمجموعة الدموية O إذا لم تتكتل بالمصل المضاد Anti-A و Anti-B .

٤- يتم الفحص غير المباشر بوضع نقطة من مصل المريض في كل من الأنبوبتين المرقمتين ١ و٢. يضاف إلى الأنبوبة الأولى (١) نقطة من محلول خلايا حمراء A وإلى الأنبوبة الثانية (٢) نقطة من محلول خلايا حمراء B . تمزج محتويات الأنبـوبتين جيداً ويتم التأكد من حدوث تكتل الخلايا الحمراء أو عدمه وتكون

النتيجة كما يلي :ـ

أـ يصنف المصل بمصل المجموعة الدموية A إذا كتل الخلايا الحمراء B .

ب ـ يصنف المصل بمصل المجموعة الدموية B إذا كتل الخلايا الحمراء A .

جـ ـ يصنف المصل بمصل المجموعة الدموية O إذا كتل الخلايا الحمراء A و B .

د ـ يصنف المصل بمصل المجموعة الدموية AB إذا لم يكتل الخلايا الحمراء A و B .

ملاحظات هامة :ـ

١ـ يمكن استبدال أنابيب الاختبار بالشرائح الزجاجية حيث تستخدم شريحة للفحص المباشر وأخرى للفحص غير المباشر وتمزج الأمصال مع الخلايا الحمراء بأعواد خشبية .

٢ـ تعتمد المجموعة الدموية في نظام ABO بشكل مطلق عند تطابق نتائج الفحص المباشر وغير المباشر فقط .

٣ـ يشير عدم أو ضعف تكتل الخلايا الحمراء المعروفة بمصل المريض إلى امكانية وجود الأجسام المضادة المحللة بدل المكتلة . يمكن استبعاد وجود الأجسام المضادة المحللة بوضع المصل لمدة نصف ساعة في حمام مائي بدرجة ٥٦°م حيث تتحول الأجسام المضادة المحللة إلى أجسام مضادة مكتلة . لذا يجب إثبات وجود الأجسام المضادة المحللة في سجلات بنك الدم لأنها تعتبر مسؤولة عن بعض مضاعفات نقل الدم خاصة في حالات المتبرع العام (O) والمستقبل العام (AB) .

٤ـ يجب إعادة التأكد من المجموعة الدموية عند عدم التوافق بين نتائج الفحص المباشر وغير المباشر . يمكن تقصي أسباب عدم التوافق بين نتائج الفحص المباشر وغير المباشر التي يمكن أن تكون بعض ما يلي :ـ

أـ وجود أجسام مضادة باردة يمكن أن تكتل الخلايا الحمراء المعروفة بغض النظر عن مجموعاتها الدموية . لذا يجب إضافة مصل المريض إلى خلاياه الحمراء بعد وضعه بدرجة ٤°م لمدة ١ـ٢ ساعة . يلاحظ تكتل خلايا المريض مع مصله البارد وتلاشي التكتل عند وضع المزيج في حمام مائي بدرجة ٣٣م لمدة ٥ـ١٠ دقائق .

ب ـ وجود أجسام مضادة ذاتية (Autoantibodies) تكتل خلايا المريض الحمراء.

يمكن التأكد من وجود الأجسام المضادة الذاتية بتجربة كومب المباشرة على الخلايا الحمراء للمريض. يجب غسل الخلايا الحمراء بكميات كبيرة من المحلول الملحي الطبيعي.

جـ ـ وجود أجسام مضادة غير متوقعة (Irregular Abs) مثل Anti-D التي يمكن أن تتفاعل مع أنتيجيناتها في جدران الخلية الحمراء.

د ـ وجود المجموعات الدموية A_2 و A_2B التي يحتوي مصلحها على الأجسام المضادة Anti-A_1 الذي يكتل الخلايا الحمراء A . يمكن التأكد من وجود الأجسام المضادة Anti-A_1 في مصل المريض بإضافته إلى الخلايا الحمراء A_1 بدرجة حرارة الغرفة أو ٤°م لأن أجسامه المضادة باردة.

هـ ـ خلو مصل بعض الأطفال من الأجسام المضادة بسبب عدم اكتمالها أو انعدامها بسبب نقص أو انعدام الجاما جلوبولين (γ Globulin) كما قد يحتوي مصل بعض الأطفال حديثي الولادة (أقل من ٦ شهور) على الأجسام المضادة الخاصة بامهاتهم بنسب محسوسة وفعالة.

٥ـ يمكن استبدال محلول الخلايا الحمراء (٢٪ للأنابيب و ١٠٪ للشرائح) في الفحص المباشر بنقط دم كامل من الجلد أو العينات المسحوبة على موانع التجلط بحيث لا يزيد عمرها عن ٢٤ ساعة.

تعتبر نتائج هذه الطريقة أولية وليست نهائية لأنها تعاني من إمكانية حدوث أخطاء بنسب عالية للأسباب التالية:ـ

أ ـ زيادة حجم نقطة الدم وبالتالي الأنتيجين بالمقارنة مع كمية الأجسام المضادة المستخدمة مما يضعف التفاعل ويقلل سرعته.

ب ـ إمكانية وجود كميات كبيرة من أنتيجينات A أو B في دم بعض المصابين بتكيس المبايض (Pseudomucinous Ovary Cysts) .

٦ـ يجب جمع محاليل الخلايا الحمراء الخاصة بالمجموعة A لإجراء الفحص غير المباشر من ما لا يقل عن ستة متبرعين للتأكد من وجود الخلايا الحمراء A2 في المحاليل المستخدمة.

٧- يمكن استخدام الطرد المركزي للتأكد من تكتل الخلايا الحمراء عند استخدام الأنابيب وذلك بوضعها في جهاز الطرد المركزي لمدة دقيقة وبسرعة ١٥٠٠د/د.

(٤) الكشف عن المجموعات الدموية الثانوية (A1B, A1)

- يمكن الكشف عن وجود أنتيجينات A1 بإضافة نقطة من المصل المضاد Anti-A1 إلى ٢٪ محلول الخلايا الحمراء في أنبوب يترك بعد مزجها لمدة ١٥ دقيقة بدرجة حرارة الغرفة تعرض بعدها للطرد المركزي لمدة ٥ دقائق وبسرعة ٢٥٠٠د/د. يشير التكتل إلى وجود المجموعات الدموية A1 أو A1B . في حين يشير عدم حدوث التكتل إلى وجود المجموعات الدمَوية A2 أو A2B .
- كما يمكن تمييز المجموعات الدموية النادرة مثل A3 أو A3B بظهور الكتل المخاطية المبعثرة للخلايا الحمراء مع كميات كبيرة من الخلايا الحمراء غير المكتلة كما تظهر عند الفحص المجهري.
- في حين تميز المجموعة الدموية Ao أو AoB بتكتل خلاياها الحمراء بأمصال معظم المصنفين بـ O وعدم تكتلها بمصل المجموعة الدموية B .

(٥) الكشف عن المفرزين وغير المفرزين

تستخدم عينات اللعاب للتعرف على المفرزين وغير المفرزين وذلك بالتأكد من احتوائها على أنتيجينات مجموعاتهم الدموية من نظام ABO . يتم التخلص من أنزيمات اللعاب التي قد تحلل الأنتيجينات بوضع حوالي ٥ ملل لعاب في حمام ماء يغلي لمدة ١٠ دقائق. يستخدم الراشح أو الطافي للكشف عن أنتيجينات نظام ABH كما يلي:-

١- توضع نقطة من المصل المضاد للأنتيجين (Anti-H)H في انبوبتين ١ و٢.
٢- يضاف إلى الأنبوبة الأولى نقطة من راشح أو طافي اللعاب وللأنبوبة الثانية نقطة من المحلول الملحي.
٣- تمزج محتويات الأنبوبتين وتترك لمدة ١٠ دقائق بدرجة حرارة الغرفة ويضاف إلى كل أنبوبة نقطة من محلول ٥٪ خلايا حمراء من المجموعة الدموية O وتمزج جيداً. يتم التأكد من تكتل الخلايا الحمراء في الأنبوبتين وتكون النتائج المحتملة كما يلي:-

أ- يعتبر المريض مفرزاً إذا تكتلت الخلايا الحمراء في الأنبوب رقم ٢ ولم تتكتل في الأنبوب رقم ١.

ب- يعتبر المريض غير مفرزٍ إذا تكتلت الخلايا الحمراء في الأنابيب ١ و٢.

جـ- يشير عدم التكتل في الأنبوبتين إلى عدم صلاحية الأمصال المضادة المستخدمة.

الكشف عن الأنتيجين Rho(D)

يمكن الكشف عن وجود الأنتيجين Rho(D) في خلايا المريض الحمراء بأحدى الطرق التالية:-

١- باستخدام المصل المضاد (Anti-D) غير الكامل (IgG) كما يلي:-

أ- توضع نقطة من المصل المضاد Anti-D غير الكامل في انبوبة طرد مركزي ويضاف إليها نقطة من محلول ٥٪ خلايا حمراء في مصله أو مصل المجموعة الدموية AB

ب- توضع الأنبوبة بعد مزج محتوياتها في حمام مائي بدرجة ٣٧م لمدة لا تقل عن نصف ساعة (ساعة ونصف عادة).

جـ- يتم التأكد من تكتل الخلايا الحمراء بالعين المجردة والعدسات المكبرة أو بالمجهر.

د- عند عدم ملاحظة التكتل تعرض العينة للطرد المركزي لمدة دقيقتين ١٥٠٠د/د ويتم التأكد من تكتل الخلايا الحمراء مباشرة أو بالعدسات المكبرة أو المجهر.

يلاحظ أن التكتل المصلي للخلايا الحمراء بناء على نظام Rh-Hr أضعف بكثير من تكتلها بناء على نظام ABO . لذا يجب عدم استبعاد التكتل المصلي في هذه الحالة إلا بعد الفحص المجهري.

٢- تستخدم الأجسام المضادة الكاملة (Anti-D) بنفس الطريقة السابقة باستثناء استبدال محلول ٥٪ خلايا حمراء في مصل المريض أو مصل AB بمحلول ٥٪ خلايا حمراء في المحلول الملحي. تستخدم الأجسام المضادة (Anti-D) الكاملة في الكشف عن الأنتيجين في بعض الحالات المشكوك بصحة نتائجها وذلك بسبب ندرة الأجسام المضادة (Anti-D) الكاملة. كما يجب عدم استخدام الأجسام المضادة

(Anti-D) الكاملة مع الخلايا الحمراء للأطفال الذين يعانون من تحلل الدم (N.B.H.D) لأن خلاياهم الحمراء مكسوة بالأجسام المضادة (Anti-D) غير الكاملة مما يسبب النتائج السلبية.

لا تصلح الأجسام المضادة (Anti-D) غير الكاملة في الكشف عن الأنتيجين (D) في دم الذين يعانون من التحلل المناعي الذاتي للخلايا الحمراء (Autoimune H.D) لأن تعليق خلاياهم في المصل يعمل على تكتلها. لذا يجب غسل الخلايا الحمراء بالمحلول الملحي.

٣- يمكن الكشف عن الأنتيجين Rho(D) باستخدام الشرائح الزجاجية كما يلي :-

أ- توضع نقطتين من دم ثقب جلد المريض أو عينات الدم المسحوبة على موانع تجلط لا يزيد عمرها عن ٢٤ ساعة على شريحة نظيفة ويضاف لها نقطة من مصل الأجسام المضادة غير الكاملة وتمزج جيداً على مساحة واسعة من سطح الشريحة التي ترفع درجة حرارتها إلى ٤٠-٤٥م.

ب - يتم التأكد من امكانية تكتل الخلايا الحمراء خلال دقيقتين. يشير تكتلها إلى احتوائها على الأنتيجين Rho(D) .

جـ - تنشأ الأخطاء السلبية للعينات الإيجابية بسبب صغر حجم العينة بالنسبة للمصل أو بسبب عدم التسخين بشكل كافي.

د - يمكن تسخين الشرائح الزجاجية قبل استعمالها للإسراع في اكتمال التجربة.

هـ - تنشأ الأخطاء الإيجابية للعينات السلبية بسبب التكتل الذاتي.

الكشف عن الأنتيجين $Rh_u(D_u)$

يجب عدم تصنيف أي دم بـ Rh-ve قبل استبعاد وجود أنتيجينات $Rh_u(D_u)$ الضعيفة التي يتم الكشف عنها كما يلي :-

أ- تضاف نقطتين من مصل الأجسام المضادة (Anti-D) غير الكاملة إلى نقطتين من محلول ٢٪ خلايا حمراء في المحلول الملحي في انبوبة طرد مركزي ويوضع المزيج لمدة نصف ساعة بدرجة ٣٧°م.

ب - تغسل الخلايا الحمراء بالمحلول الملحي ثلاث مرات ويعدل تركيزها مرة أخرى إلى ٢٪.

جـ- يضاف نقطة من مصل كومب المضاد للجلوبولين وتعرض محتويات الأنبوبة للطرد المركزي بقوة تقدر بـ ١٥٠٠ج/د لمدة دقيقتين. يتم التأكد من تكتل الخلايا الحمراء أو عدمه.

د- يتم اتباع نفس الخطوات على عينة الدم في أنبوبة أخرى بحيث لا يضاف مصل كومب المضاد للجلوبولين وذلك لمقارنتها بالأنبوبة الأولى.

هـ- قد يضاف محلول الألبومين (Bovine) أو أنزيم البابين إلى محلول الخلايا الحمراء قبل تفاعلها للمساعدة على تكتلها.

و- يشير التكتل في الأنبوبة الأولى وعدم تكتلها في الأنبوبة الثانية إلى وجود الأنتيجين Rhu(Du) . كما يشير التكتل في الأنبوبتين إلى أن الخلايا الحمراء مكسوة بالأجسام المضادة الذاتية. لذا يتعذر التأكد من وجود الأنتيجين Rhu(Du) في هذه الحالة.

الكشف عن الأنتيجينات C و E و c و e

تستخدم الأمصال المضادة Anti-C و Anti-E و Anti-c و Anti-e التي يتم الحصول عليها من مصل الإنسان في الكشف عن وجود الأنتيجينات C و E و c و e في الخلايا الحمراء للمصنفين بـ Rh-ve . يراعى اتباع تعليمات الشركة المصنعة للأمصال المضادة.

الكشف عن أنتيجينات M و N في الخلايا الحمراء

تحضر الأمصال المضادة Anti-M و Anti-N بحقن الأرانب بخلايا حمراء تحمل أنتيجينات M أو N وتستخدم في الكشف عن الأنتيجينات M و N . كما يلي:-

١- توضع نقطة من المصل المضاد Anti-M وأخرى من المصل المضاد Anti-N كل في أنبوبة طرد مركزي. ويضاف إلى كل أنبوبة نقطة من حوالي ٥٪ محلول خلايا المريض الحمراء في المحلول الملحي.

٢- يوضع مزيج المصل المضاد والخلايا الحمراء بدرجة حرارة الغرفة (٢٠-٢٥م) لمدة ساعتين حيث تمزج محتويات الأنابيب أثناء ذلك كل ١٥ دقيقة.

٣- يتم التأكد من حدوث التكتل في الأنبوبتين وتكون النتائج التالية:-

أ- تصنف الخلايا الحمراء بالمجموعة الدموية M إذا تكتلت مع Anti-M .

ب- تصنف الخلايا الحمراء بالمجموعة الدموية N إذا تكتلت مع Anti-N .

جـ ـ تصنف الخلايا الحمراء بالمجموعة الدموية MN إذا تكتلت في الأنبوبتين.

يلاحظ عدم وجـود أية مجمـوعـة دمـوية خالية من الأنتيجينات M و N تقابل المجموعة الدموية O في نظام ABO . كما يجب عدم اعتماد نتيجة الفحص إلا إذا قورنت بنتائج فحص خلايا حمراء تحمل أنتيجينات M و N .

الكشف عن أنتيجينات Kell و Duffy

نظراً لأن الأجسام المضادة لأنتيجينات Kell و Duffy غير كاملة بشكل دائم فيتم الكشف عنها بمساعدة مصل كومب المضاد للجلوبولين كما يلي :ـ

١ـ توضـع في أنبـوبـة طرد مركـزي منـاسبة نقطة من المصل المضاد Anti-Kell و Anti-Duffy كل على حدة ويضاف إلى كل منها نقطة من محلول حوالي ٥٪ خلايا حمراء في المحلول الملحي.

٢ـ يوضع مزيج الخلايا الحمراء والمصل المضاد في حمام مائي بدرجة ٢٠ـ٢٥م لمـدة ساعـة. ومن ثم تغسـل الخلايا الحمراء بالمحلول الملحي ثلاث مرات ويعدل تركيزها إلى حوالي ٥٪.

٣ـ يضاف نقطة من مصل كومب المضاد للجلوبولين إلى الخلايا الحمراء المغسولة وتعرض بعد مزجها بخمسة دقائق للطرد المركزي لمدة دقيقة وبسرعة ١٥٠٠د/د.

٤ـ يشير تكتل الخلايا الحمراء إلى وجود أنتيجين Kell وأنتيجين Duffy في الخلايا الحمراء حسب طبيعة المصل المضاد.

٥ـ يجب عدم اعتماد نتيجة الفحص إلا إذا قورنت بنتائج فحص الخلايا الحمراء التي تحمل الأنتيجينات.

الكشف الآلي عن المجموعات الدموية

Blood Autogrouping

يتميز التصنيف الآلي لعينات الدم عن الطرق اليدوية المتبعة في تصنيف الدم إلى مجموعات بما يلي :ـ

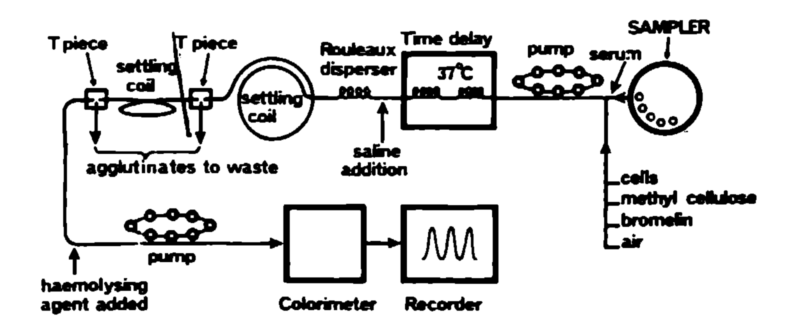
١ـ السرعة :ـ يمكن الكشف عن ٢٠ـ١٢٠ عينة في الساعة.

٢ـ زيادة الحساسية.

٣ـ الدقة في قياس التركيز.

٤ـ امكانية عملها بمساعدة الحاسوب.

تعتمد أجهزة الكشف الآلى عن المجموعات الدموية نظام الضخ المتواصل. يوضح الشكل رقم (٢٣) مخطط عمل إحدى قنوات جهاز الكشف عن أنتيجينات المجموعات الدموية وعن أجسامها المضادة وقياس تركيزها.



شكل رقم (٢٣)

يعمل جهاز الكشف عن الأنتيجينات والأجسام المضادة الخاصة بمختلف المجموعات الدموية كما يلي :ـ

١ـ تغذى العينات المختلفة (مصل أو دم أو خلايا) لفتحة انبوبة تقبل العينات الخاصة بالجهاز من كؤوس موزعه على قرص يدور بخطوات منتظمة بمعدل يقدر بحوالي ٢٠ـ١٢٠ خطوة في الساعة على التوالي بحيث يحصل الجهاز على حجم ثابت من كل عينة في كل توقف.

٢ـ تتلاقى العينات بعد امتصاصها مع تيار مؤلف من المحاليل التالية :ـ

أـ محلول معلق خلايا حمراء قياسية تحمل الأنتيجين المستخدم في الجهاز أو

مصل يحتوي على الأجسام المضادة وذلك بناء على طبيعة عمل الجهاز.

ب ـ محلول Methyl Cellulose للمساعدة على تكتل الخلايا بشكل غير حقيقي (Raulex).

جـ ـ محلول انزيم Bromelin للمساعدة على تكتل الخلايا بشكل حقيقي.

د ـ تيار من الهواء يوفر فقاعات تقطع تيارات السوائل إلى اجزاء يمثل كل جزء عينة كما يساعد تيار الهواء على تنظيم حركة تيارات السوائل والمحاليل داخل القنوات المختلفة.

٣ـ يدخل مزيج المحاليل والعينة في حاضنة تعتمد درجة حرارتها وفترة بقاء تيار المحاليل داخلها على طبيعة التفاعل المصلي المقترح.

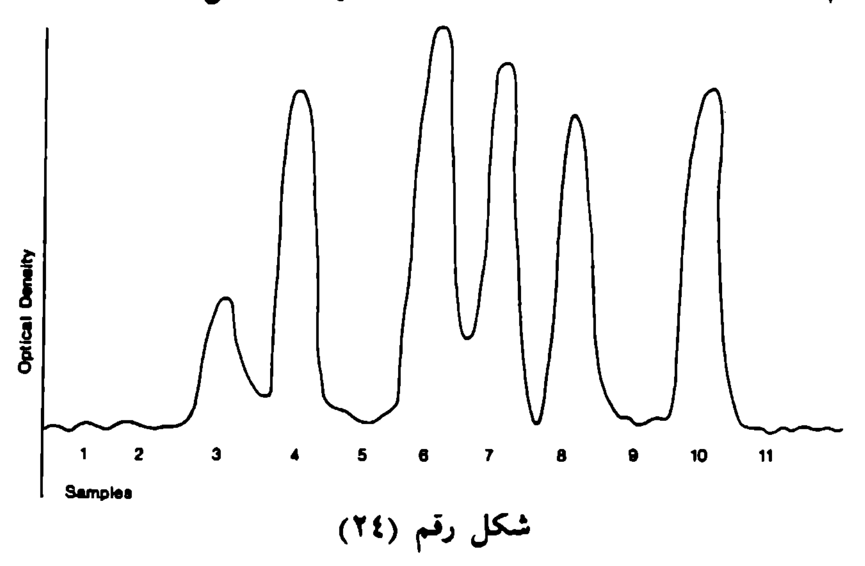
٤ـ يخرج مزيج المحاليل من حجرة الحضانة ويتلاقى مع تيار محلول ملحي وذلك لبعثرة التكتل الكاذب والاحتفاظ بالتكتل المصلي الحقيقي قبل دخول المحاليل إلى وحدتي ترويق التكتل.

تتألف وحدة الترويق من أنبوب لولبي وأنبوب متفرع على هيئة الحرف T بحيث تستمر تيارات معلق الخلايا الحمراء المبعثرة في الاتجاه المستقيم أما التكتل الحقيقي وبعض الخلايا الحرة فتخرج من الفتحة للتخلص من التكتل أو جمعه بترويقه على لفة شريط ورق ماص يتحرك بسرعة ثابتة. يتم التأكد من حدوث التكتل بفحص رواسب الخلايا الحمراء على الشريط الورقي بالعين المجردة.

يمكن التأكد من حدوث التفاعل المصلي وقياس قوته وخاصة عند الحاجة للكشف عن الأجسام المضادة بتعريض معلق الخلايا الحمراء المبعثرة بعد تجاوزها لوحدات الترويق للتحلل الكامل بمزجها مع تيار من محلول يحلل الخلايا. تقاس الكثافة الضوئية لمحلول الهيموجلوبين الخاص بكل عينة وتسجل النتائج عن طريق مخطط على شريط ورقي يتحرك بسرعة $\frac{1}{2}$ أنش/د. يوضح الشكل رقم (٢٤) مخطط الشريط الورقي الخاص بقوة التفاعل المصلي الخاص بانتيجينات الدموية.

يشير انخفاض قمة الكثافة الضوئية الخاص بالعينات عن خط القاعدة الأساسية الذي يمثل الكثافة الضوئية للمحلول الناتج عن تحلل جميع الخلايا الحمراء الخاصة بكل عينة إلى حدوث تفاعل مصلي. يتناسب الفرق بين الكثافة الضوئية لمحلول العينات والكثافة الضوئية الخاص بالعينة الضابطة طردياً مع قوة التفاعل

المصلي. تظهر نتيجة الكشف عن أنتيجين أي عينة بعد ١٥ دقيقة من دخولها فتحة الجهاز على الشريط الورقي الماص وبعد حوالي ٣٠ دقيقة عند الكشف عن الأجسام المضادة عن طريق مخطط الكثافة الضوئية لمحاليل الخلايا المتحللة.



شكل رقم (٢٤)

يتألف أي جهاز للكشف الآلي المتواصل عن الأنتيجينات من عدد من القنوات كل قناة تختص بأنتيجين أو جسم مضاد فمثلاً جهاز تصنيف الدم إلى مجموعات بناء على نظام ABO و Rh-Hr يجب أن يحتوي على القنوات التالية على الأقل:-

ثلاثة قنوات لنظام ABO تحتوي على Anti-A, Anti-B & Anti-AB(O)

ثلاثة قنوات لنظام Rh-Hr تحتوي على Anti-(D + E) و Anti-(D + C) و Anti-D . يعتبر جهاز Techneon Autoanalyzer من أكثر أجهزة الكشف المتواصل شهرة وكفاءة. تتميز هذه الأجهزة بدقة نتائجها وكفاءتها العالية. لذا تستخدم عندما يزيد عدد العينات بشكل ملحوظ. استخدم الفرنسيون نوعاً آخر من الأجهزة للكشف عن الأنتيجينات والأجسام المضادة بشكل جماعي (Batchwise) وسميت Group match .

تتميز أجهزة Group match بحدوث التفاعل المصلي بين العينة ومحاليل التفاعل في كؤوس قواعدها شفافة ومقعرة وموزعة بشكل منتظم على قرص يتحرك بخطوات منتظمة. يحمل القرص ١٤٤ كأساً يخترق قواعدها بعد اكتمال التفاعل المصلي شعاع ضوئي لقياس نتائج التفاعل التي تسجل بواسطة الحاسوب.

الفصل الثاني

ـ الكشف عن المجمــوعــات الــدمــوية البــروتينية (Gm وGc وKm والهابتوجلوبينات) والنسيجية (HLA)

الكشف عن المجموعات الدموية الخاصة بالهابتوجلوبين

تستخدم شرائح هلام ١٣٪ نشاء محضرة في منظم Tris - citrate (ر. هـ ٨,٧) أبعادها ١١×١١×٠,٦سم لفصل هابتوجلوبينات ٨ عينات بالترحيل الكهربائي حيث تملأ أحواض الأقطاب بمنظم البورات (ر. هـ ٧,٩).

الخطوات العملية:ـ

١ـ تبلل قطعة من الورق الماص (whatman-3) أبعادها ٤×٣ ملم بعينات المصل الملونة بمحلول Hb-A .

٢ـ تغرس شرائح الورق الماص في شرائح هلام النشاء بين القطبين وتعرض لتيار كهربائي مباشر قوته ٦ فولت/سم لمدة ٤ ساعات.

٣ـ يمكن التعرف على المجموعة الدموية بعد تحديد مواقع الهابتوجلوبينات بمحلول كاسيلماير أو البنزيدين بالرجوع إلى الشكل رقم (٨) ص .

الكشف عن المجموعات الدموية في نظام Gc

يستخدم الترحيل الكهربائي المناعي في الكشف عن المجموعات الدموية الخاصة بنظام Gc باتباع الخطوات التالية:ـ

١ـ تحفر ٦ أبار قطر كل منها ٢ ملم على مسافة ١,٣سم من نهاية شريحة هلام الأجار أبعادها ٨×٨×٠,٢سم من جهة القطب السالب. ثم تحفر ثلاثة خنادق طولية تتخلل الأبار وتبعد عنها ٤ـ٥ ملم.

٢ـ تفرغ الآبار من محتوياتها من هلام الأجار ويملأ كل بئر بعينة وتملأ بعض الآبار بعينات خاصة بالمجموعات ١ و٢ و٢ـ١. تمزج إحدى العينات القياسية بحجم مساوٍ من صبغة Amidoschwartz للتأكد من اكتمال الترحيل.

٣ـ تعرض شرائح هلام الأجار لتيار مباشر بقوة ٦ فولت/سم لمدة ١,٥ ـ ٢ ساعتين.

٤ـ تفرغ الخنادق من محتوياتها من هلام الأجار وتملأ بالمصل المضاد لِـ Gc وتترك

الشرائح في جو رطب بدرجة ٣٧م لمدة ١٨-٢٤ ساعة.

٥- يمكن زيادة كثافة خطوط Gc بغمس الشرائح في محلول ١٪ حامض التانيك (Tannic) لمدة ٥-١٠ دقائق بعد غمسها في محلول ٢,٥٪ كلوريد الصوديوم للتخلص من الخلفية البروتينية للشرائح.

٦- يمكن التعرف على المجموعة الدموية بمقارنة أقواس العينة المناعية مع الأقواس المناعية لمختلف المجموعات كما هو موضح في الشكل رقم (٩).

الكشف عن أنتيجينات HLA بتسمم الخلايا الليمفاية (SD)

(Lymphocytoxity Test= LCT)

تتميز هذه التجربة بحساسيتها وفعاليتها إذ أن ١ ملل مصل مضاد كافية لاجراء ١٠٠٠ فحص و١ ملل دم يوفر عدداً كافياً من الخلايا الليمفاوية للقيام بحوالي ٥٠٠-١٠٠٠ فحص مستقل. يُستخدم في هذه التجربة طبق آبار الامصال المجمدة حيث يحتوي كل بئر على ٠٠١, ملل من المصل المضاد مغموراً بـ ٠٠٥, ملل من زيت معدني لمنع تبخر العينة وتحفظ مجمدة بدرجة ٧م تحت الصفر.

الخطوات:-

١- تميع الأمصال المجمدة الموزعة في أبار الطبق الخاص بالأنتيجينات المطلوب الكشف عنها قبل التجربة مباشرة.

٢- يمزج معلق الخلايا الليمفاوية بشكل جيد ويوضع ٠,٠٠١ ملل منه بواسطة ماصة في كل بئر مع ضرورة عدم ملامسة رأس الماصة لسطح المصل.

٣- تمزج الخلايا مع المصل وتترك في درجة حرارة الغرفة (٢٣م) لمدة نصف ساعة.

٤- يضاف إلى سطح الخليط مباشرة وبدون اسقاط ٠,٠٠٥ ملل من مصل متمم الأرنب وتمزج محتويات الآبار وتوضع في درجة حرارة الغرفة لمدة ساعة كاملة.

٥- يضاف إلى سطح الخليط مباشرة وبدون اسقاط ٠,٠٠٣ ملل من محلول مائي ٥٪ ايوسين (5% aq. Eosin) وتمزج المحتويات جيداً ويضاف بعد دقيقتين ٠,٠٠٨ ملل من الفورمالين إلى كل بئر وتمزج محتوياته. يمكن استخدام محلول Trypan Blue مع EDTA بدل الأيوسين والفورمالين.

٦- تسطح النقط في الآبار بتغطيتها بشريحة زجاجية ٥٠ × ٥ ,٠ ملم تحمل حوافها شمعاً ساخناً لمنع تبخر وانسياب المحاليل من مختلف الآبار.

٧ـ تفحص النقط المسطحة الخاصة بكل بئر بالعدسة الشيئية ١٠ الخاصة بمجهر الانكسار الضوئي (Internal Phase contrast Mic) حيث تظهر الخلايا الليمفاوية الحية صغيرة وعديمة اللون والميتة كبيرة ملونة بالصبغة.

نظراً لصعوبة التفريق بين الخلايا الحمراء والبيضاء في هذه الدرجة من التكبير فيجب التأكد من خلو معلق الخلايا الليمفاوية من الخلايا الحمراء.

يتم كتابة التقرير المخبري باتباع أي من الأسلوبين التاليين:ـ

أـ تقرأ النتائج في ٤٠ بئر/دقيقة بمقارنة عدد الخلايا الحية في كل بئر مع عددها في البئر الخاص بعينة قياسية وتكون النتائج المحتملة كما يلي:ـ

- سلبية إذ تساوى عدد الخلايا الحية في البئرين.
- سلبية غير مؤكدة إذا زادت خلايا العينة عن الخلايا الميتة في العينة القياسية بشكل طفيف (< ١٠).
- ايجابية غير مؤكدة إذا زادت خلايا العينة الميتة عن الخلايا الميتة في العينة القياسية بنسبة ١٠ـ٢٠٪ .
- ايجابية مؤكدة إذا زادت خلايا العينة الميتة عن الخلايا الميتة في العينة القياسية بنسبة ٢٠ـ٩٠٪
- ايجابية بشكل قوي إذا زادت خلايا العينة الميتة عن الخلايا الميتة في العينة القياسية بنسبة > ٩٠٪.
- النتيجة صفر في حالة عدم حدوث أي تفاعل.

ب ـ تقاس النسبة المئوية للخلايا الميتة في كل بئر وتكون النتائج المحتملة كما يلي:ـ

- سلبية إذا كانت النسبة المئوية < ٢٠٪ .
- مشكوك في ايجابيتها إذا كانت النسبة المئوية ٢٠ـ٤٠٪ .
- ايجابية بشكل ضعيف إذا كانت النسبة المئوية ٤٠ـ٦٠٪ .
- ايجابية مؤكدة إذا كانت النسبة المئوية ٦٠ـ٨٠٪ .
- ايجابية بشكل قوي إذا كانت النسبة المئوية > ٨٠٪ .

الكشف عن أنتيجينات HLA بزراعة خليط الخلايا الليمفاوية (LD = MLC)

تستخدم اطباق المزارع النسيجية التي يحتوي الطبق الواحد منها على ٩٦ بئر

تقدر سعته القصوى بـ ٣٠٠-٤٠٠ ميكل. تحتوي الآبار على خلايا ليمفاوية منشطة ومعلمة لإثارة الخلايا الليمفاوية الخاصة بالعينة. تعلم الخلايا الليمفاوية المنبهة بالأشعة ($2000R^{137}ci$) أو تعامل بالميتومايسين - سي (Mitomycine-c) بنسبة ٢٥-٥٠ ميكغم/ ملل من معلق الخلايا الليمفاوية المنشطة. وفي ما يلي الخطوات العملية :-

١- يضاف معلق الخلايا الليمفاوية للعينة إلى معلق الخلايا الليمفاوية المنشطة الموزعة في الآبار بنسبة ١:١ بحيث يقدر حجم الوسط النسيجي بحوالي ٥٠-٢٥٠ ميكل ويشمل الأمصال والمضادات الحيوية عند الحاجة.

٢- يحفظ خليط الخلايا الليمفاوية في الآبار المقفلة باحكام لمدة ٥-٦ أيام بدرجة ٢٣م قبل اضافة الثايمدين المشع (^{3}H-Thymidine) بمعدل ١-٢ ميكروكوري في كل بئر.

٣- تمزج محتويات الآبار جيداً وتحفظ مقفلة بإحكام لمدة ٦-١٨ ساعة لاستيعاب الثاميدين المشع في درجة حرارة الغرفة (٢٣م).

٤- يغسل خليط الخلايا الليمفاوية بمحلول الكولين المطور (modified choline) للتخلص من الثايمدين الحر على مرشحات من الصوف الصخري.

٥- يقاس الثايمدين المشع على الصوف الصخري وبالتالي كيمة الثايمدين التي تم استيعابها وتعتبر مؤشراً على سرعة انقسام الخلايا الليمفاوية الخاصة بالعينة. يستوعب DNA المنبه حديثاً كميات كبيرة من الثايمدين المشع عند إثارة خلايا العينة.

الفصل الثالث

- الكشف عن الأجسام المضادة غير المتوقعة
- تجربة الموافقة (Compatibility)
- تجربة البانيل (Panel)
- امتصاص الأجسام المضادة (Adsorption)
- غسل واستخلاص الأجسام المضادة (Elution)

تجربة الموافقة

Cross Matching (Compatibility) Test

بعد اختيار دم المتبرع بناء على توافقه مع دم المريض بناء على نظام ABO ونـظام Rh-Hr يجب استبعـاد مضـاعفات نقل الدم المحتمل حدوثها نتيجة وجود أجسام مضادة غير متوقعة لأنتيجينات الخلايا الدموية. لذا يجب التأكد من عدم حدوث أي تفـاعـل مصلي بين مصـل المـريض وخـلايا المتبـرع (المـوافقـة الكبـرى Major X) وبين مصـل المتبـرع والخـلايا الـدمـوية للمريض (الموافقة الصغـرى Minor X) قبـل نقل الدم. تعتبر مضاعفات عدم التوافق في الموافقة الكبرى أشد بكثير من مضاعفات عدم التوافق في الموافقة الصغرى. يراعى استبعاد وجود جميع أنواع الأجسام المضادة بما في ذلك الكاملة وغير الكاملة والباردة والدافئة والمحللة... الخ عند اجراء تجربة الموافقة. لذا يجب الاستعانة بمصل كومب المضاد للجلوبولين والألبومين أو محلول الأنزيمات لاجراء تجربة الموافقة كما يلي:-

أ- الموافقة بمساعدة مصل كومب المضاد للجلوبولين

يستخدم مصل كومب في اجراء تجربة الموافقة بين دم المريض ودم المتبرع كما يلي:-

١- توضـع نقطة من مصل المريض في انبوبة طرد مركزي يضاف إليها نقطة من محلول ٥٪ خلايا المتبرع الحمراء (موافقة كبرى). كما توضع نقطة من مصل المتبرع في انبوب طرد مركزي اخرى ويضاف إليها نقطة من محلول ٥٪ خلايا المـريض الحمـراء (مـوافقة صغرى). تمزج محتويات أنابيب الموافقة الكبرى والصغرى وتعرض للطرد المركزي بسرعة ١٢٠٠د/د ولمدة دقيقة واحدة.

٢- في حالة عدم تكتل الخلايا الحمراء في أي من أنبوبتي الموافقة يتم وضع الأنابيب في حمام مائي بدرجة ٣٧م لمدة ١٥ دقيقة وتغسل الخلايا الحمراء بالمحلول الملحي ثلاث مرات. يعدل تركيزها إلى حوالي ٥٪ بالمحلول الملحي ويضاف إلى كل انبوبة نقطة من محلول الألبومين (Bovine) تتبعها نقطة من مصل كومب المضاد للجلوبولين. تعرض محتويات الأنابيب للطرد المركزي بسرعة ١٥٠٠د/د لمدة دقيقة واحدة.

٣- يشير تكتل الخلايا الحمراء قبل إضافة مصل كومب إلى أن عدم التوافق الخاص بالأنبوبة ناتج عن وجود أجسام مضادة كاملة. في حين يُشير تكتل الخلايا الحمراء بعد إضافة مصل كومب إلى أن عدم التوافق الخاص بالأنبوبة ناتج عن وجود أجسام مضادة غير كاملة. كما يشير عدم التكتل في أي من انبوبتي الموافقة إلى توافق دم المريض مع دم المتبرع. يساعد وجود محلول الألبومين (٣٠٪) مع الخلايا الحمراء على الكشف عن وجود الأجسام المضادة غير الكاملة.

ب ـ الموافقة بمساعدة انزيم البابين المنشط

يستخدم محلول انزيم البابين المنشط في عملية الموافقة كما يلي:ـ

١ـ توضع نقطة من مصل المريض في انبوبة طرد مركزي ويضاف إليها نقطة من محلول ٥٪ خلايا المتبرع الحمراء. كما يوضع في انبوبة اخرى نقطة من مصل المتبرع ويضاف إليها نقطة من خلايا المريض الحمراء.
٢ـ يضاف إلى كل انبوبة نقطة من محلول انزيم البابين المنشط وتمزج محتويات الأنابيب جيداً وتوضع في حمام ماء بدرجة ٣٧م لمدة ١٥ دقيقة تعرض بعد ذلك للطرد المركزي لمدة نصف دقيقة بسرعة ٥٠٠د/د.
٣ـ يشير تكتل الخلايا الحمراء في أي من الأنبوبتين إلى عدم التوافق الخاص بالأنبوبة بسبب وجود أجسام مضادة كاملة أو غير كاملة.

يحضر محلول البابين المنشط بسحق ١ غم من أنزيم البابين في هاون صيني في ١٠٠٠ ملل من منظم الفسفات الذي رقمه الهيدروجيني ٦,٤-٦,٧.

يرشح المحلول الناتج ويضاف إلى الراشح ٠,٣غم هيدروكلوريد السيستين (Cystine Hydrochloride) . يوضع المزيج في حمام مائي بدرجة ٣٧م لمدة ساعة

واحدة. يوزع المحلول الناتج في زجاجات سعة ٢ ملل وتحفظ مجمدة حتى الحاجة.

الموافقة بين دم المتبرع العام (Universal Donor)

ودم المستقبل العام (Universal Recepeint)

من المتوقع عدم توافق مصل المتبرع العام (O) مع الخلايا الحمراء للمستقبل العام (AB) أثناء اجراء تجربة الموافقة الصغرى (Mn.X) . لذا يجب التأكد من أن تركيز الأجسام المضادة Anti-A و Anti-B أقل من ٥٠ وذلك باجراء الموافقة الصغرى بين مصل المتبرع العام بعد تخفيفه ٥٠ مرة مع الخلايا الحمراء للمستقبل العام كما يلي :-

١- يوضع ٠,١ ملل من مصل المتبرع العام في انبوبة اختبار ويضاف إليه ٤,٩ ملل محلول ملحي. توضع نقطة من مصل المتبرع العام المخفف في انبوبة طرد مركزي ويضاف إليها نقطة من محلول ٥٪ خلايا المستقبل العام الحمراء. كما يوضع في انبوبة طرد مركزي اخرى نقطة من مصل المستقبل العام ويضاف إليها نقطة من محلول ٥٪ خلايا المتبرع العام الحمراء. تمزج محتويات أنابيب الموافقة وتوضع في حمام مائي بدرجة ٣٠م لمدة ١٥ دقيقة.

٢- تغسل الخلايا الحمراء في حالة عدم تكتلها في المرحلة السابقة بالمحلول الملحي ثلاث مرات ويعدل تركيزها إلى حوالي ٥٪ ويضاف إلى كل أنبوبة نقطة من مصل كومب المضاد للجلوبولين وتعرض للطرد المركزي بسرعة ١٥٠٠د/د لمدة دقيقة.

٣- ينقل دم المتبرع العام للمريض إذا لم تتكتل الخلايا الحمراء حتى نهاية التجربة.

التعرف على الأجسام المضادة

يستبعد وجود الأجسام المضادة غير المتوقعة في مصل المتبرع أو مصل المريض بتجربة الموافقة بعد التأكد من تطابق دم المتبرع ودم المريض بناء على نظام ABO ونظام Rh-Hr . يجب التعرف على طبيعة ونوعية الأجسام المضادة

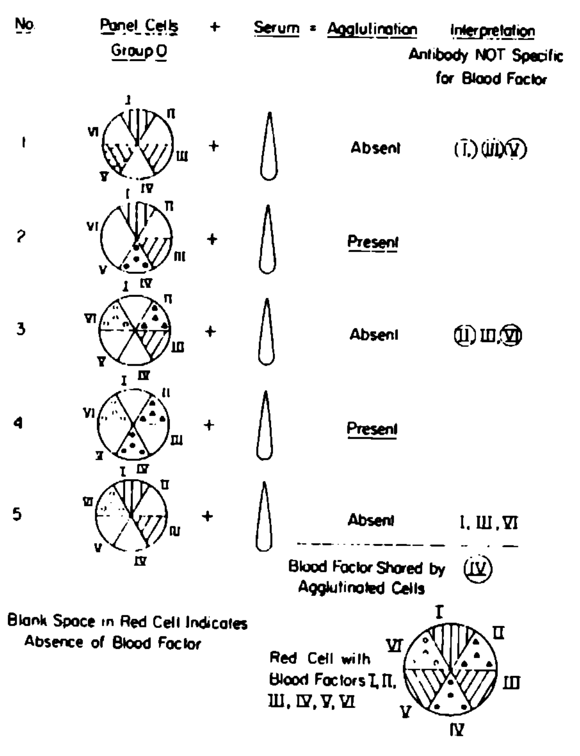
المسؤولة عن عدم التوافق وخاصة في حالة حدوث مضاعفات نقل الدم أو معاناة الأطفال حديثي الولادة من تحلل خلاياهم الحمراء لأسباب غير معروفة. يمكن التعرف على نوعية الأجسام المضادة المسؤولة عن عدم التوافق أو المضاعفات بشكل مبدئي عن طريق مفاعلة المصل مع الخلايا الحمراء التي تحمل الأنتيجين المشكوك بوجود أجسامه المضادة بعد تعليقها في المحلول الملحي أو البوفاين البومين وبمساعدة المصل المضاد للجلوبولين وأنزيم البابين أو أي أنزيم بديل وفي درجة ٣٧م ودرجة حرارة الغرفة وبدرجة ٤م لاستبعاد الأجسام المضادة الكاملة وغير الكاملة الدافئة والبادرة. تستبعد الأجسام المضادة الخاصة بالأنتيجينات الموجودة في جدار الخلايا الحمراء إذا لم يلاحظ أي تكتل للخلايا الحمراء في أي شكل من أشكال مفاعلة المصل مع الخلايا الحمراء.

يمكن تحديد نوع الأجسام المضادة في أي مصل بشكل مبدئي بأسلوب تجريبي يعتمد على الأنتيجين المشترك بين جميع أنواع الخلايا الحمراء التي يكتلها (Panel Test) . يوضح الشكل رقم (٢٥) مبدأ تطبيق تجربة البانيل للكشف عن وجود أي من الأجسام المضادة الخاصة بستة أنتيجينات موزعة على خمسة أنواع من الخلايا الحمراء. يلاحظ أن مصل العينة لم يكتل الخلايا الحمراء ١ و٣ و٥ مما يشير إلى خلو المصل من الأجسام المضادة للأنتيجينات الخمسة الموجود في جدران هذه الخلايا الحمراء. كما يلاحظ أيضاً أن الأنتيجين رقم ٤ الذي لم يستبعد من مصل العينة موجود في مجموعات الخلايا الحمراء ٢ و ٤ حيث ظهر التكتل.

بناء على ما تقدم يمكن الاستنتاج بشكل مبدئي بأن الأجسام المضادة الموجودة في العينة هي خاصة بالأنتيجين ٤ .

وفيما يلي خطوات التعرف على الأجسام المضادة المحتمل وجودها في عينة المصل بواسطة تجربة مجموعات محاليل الخلايا الحمراء المعروف نوعية أنتيجيناتها (Panel Test) .

١- يرقم حوالي ١١ أنبوب تفاعلات مصلية بحيث يخصص كل أنبوب لمجموعة خلايا حمراء معروفة أنتيجيناتها. يخصص الأنبوب الأخير للضبط الذاتي ويوضع فيه معلق الخلايا الحمراء الخاصة بالمريض.



شكل رقم (٢٥)

٢- يضاف نقطتين من مصل المريض في كل أنبوب من الأنابيب ونقطة من معلق مجموعات الخلايا الحمراء بناء على الترقيم بحيث يوضع معلق الخلايا الحمراء رقم ١ في الأنبوب رقم ١ ومعلق الخلايا الحمراء ٢ في الأنبوب رقم ٢ وهكذا.

٣- تمزج محتويات الأنابيب جيداً وتترك للحضانة بدرجة حرارة الغرفة لمدة ١٥ دقيقة.

٤- تعرض محتويات الأنابيب للطرد المركزي بسرعة ٣٠٠٠د/د لمدة ٢٠ ثانية ويتم التأكد من وجود التكتل بعد بعثرة الخلايا عن طريق خضها بلطف. وتسجل النتائج تحت العمود الخاص بدرجة حرارة الغرفة (R.T) .

٥- يضاف نقطتين من محلول ٢٠ أو ٣٠٪ بوفاين البومين إلى محتويات كل أنبوب وتمزج جيداً وتترك للحضانة في درجة ٣٧م لمدة ٣٠ دقيقة.

٦- تعرض محتويات الأنابيب للطرد المركزي بسرعة ٣٠٠٠د/د لمدة ٣٠ ثانية ويتم التأكد من وجود التكتل بعد بعثرة الخلايا عن طريق خضها بلطف وتسجل النتائج تحت العمود الخاص بالبوفاين البومين (B.A) .

٧ـ تغسل الخلايا الحمراء الموجودة في كل أنبوب عن طريق ملئها بالمحلول الملحي وبعثرة الخلايا فيها وتعريضها للطرد المركزي بسرعة ٣٠٠٠د/د لمدة ٣٠ ثانية ويتم التخلص من الطافي. تعاد عملية الغسل مرتين بالطريقة السابقة.

٨ـ يضاف نقطتين من المصل المضاد للجلوبولين إلى محتويات كل أنبوب وتعرض للطرد المركزي بسرعة ٣٠٠٠د/د لمدة ٦٠ ثانية. يتم التأكد من وجود التكتل بعد بعثرة الخلايا عن طريق حضنها وتسجل النتائج في العمود الخاص بالمصل المضاد للجلوبولين.

ملاحظة: ـ يمكن الكشف عن التكتل بدرجة ٤ م قبل درجة حرارة الغرفة كما يمكن الاستعانة بأي من الأنزيمات حسب خصائص الأجسام المضادة المتوقعة.

يوضح الجدول رقم (٢٦) نتائج تجربة البانيل للكشف عن الأجسام المضادة حيث استخدم ٩ محاليل قياسية للخلايا الحمراء من مصادر معتمدة.

IDENTIFICATION OF ANTIBODIES

SERUM I

Panel Cell No.	Rh₀ D	rh' C	rh" E	hr' c	M	N	S	s	P	K	Fy^a	Jk^a	Reactions to tests** I	II
	PANEL CELL ANTIGENS*													
1	+	+	−	+	+	+	+	+	−	−	−	+	−	−
2	+	−	−	+	+	−	−	+	+	−	+	−	+	−
3	+	−	+	+	−	+	−	+	+	+	−	+	−	−
4	−	−	−	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−
5	+	+	−	−	−	+	+	+	−	+	+	+	+	−
6	−	−	−	+	+	−	+	−	−	+	+	−	+	−
7	−	+	−	+	−	+	−	+	+	−	+	+	+	−
8	+	+	−	−	+	+	+	+	+	−	+	−	+	−
9	−	−	+	+	+	−	+	−	+	−	−	+	−	−

*+ Present
− Absent
**++ Strong agglutination
+ Moderate agglutination
− No agglutination

Interpretations: Cross out antigens present in panel cells not agglutinated by the serum being tested; circle remaining antigen(s).

1. Antigens in panel: Rh₀ rh' rh" hr' M N S s P K (Fy^a) Jk^a
2. Antibody or antibodies not excluded for: Fy^a.
3. Is at least one of the blood group antigens not excluded in 2 present in all panel cells agglutinated by the serum? Yes

Presumptive identification of antibody or antibodies: anti-Fy^a.

جدول رقم (٢٦)

SERUM II

Panel Cell No.	Rh₀ D	rh' C	rh" E	hr' c	M	N	S	s	P	K	Fy^a	Jk^a	Reactions to tests** I	II
	PANEL CELL ANTIGENS*													
1	+	+	−	+	+	+	+	+	−	−	−	+	+	+
2	+	−	−	+	+	−	−	+	+	−	+	−	+	+
3	+	−	+	+	−	+	−	+	+	+	−	+	++	+
4	−	−	−	+	+	+	+	+	+	+	−	−	+	−
5	+	+	−	−	−	+	+	+	−	+	+	+	++	++
6	−	−	−	+	+	−	+	−	−	+	+	−	+	−
7	−	+	−	+	−	+	−	+	+	−	+	+	−	−
8	+	+	−	−	+	+	+	+	[illegible]	−	+	−	+	++
9	−	−	+	+	+	−	+	−	+	−	−	+	−	−

*+ Present
− Absent
**++ Strong agglutination
+ Moderate agglutination
− No agglutination

Interpretations: Cross out antigens present in panel cells not agglutinated by the serum being tested; circle remaining antigen(s).

1. Antigens in panel: (Rh₀) rh' rh" hr' M N S s P K Fy^a Jk^a
2. Antibody or antibodies not excluded for: Rh₀(D); K.
3. Is at least one of the blood group antigens not excluded in 2 present in all panel cells agglutinated by the serum? Yes

Presumptive identification of antibody or antibodies: anti Rh₀(D); anti-K.

يتم التأكد من نتائج الكشف عن الأجسام المضادة غير المتوقعة بتجربة البانيل بأي من الخطوات التالية:-

١- مفاعلة عينة المصل مع ستة أنواع من الخلايا الحمراء ثلاثة منها تحمل في جدرانها الأنتيجين المتوقع وجود أجسامه المضادة في العينة والثلاثة الأخرى تخلو من الأنتيجين. يشير تكتل الخلايا الحمراء التي تحمل الأنتيجين وعدم تكتل الخلايا الحمراء الخالية منه إلى صحة نتائج تجربة البانيل.

٢- حضن عينة المصل مع خلايا حمراء (١) تحمل الأنتيجين وأخرى خالية منه (٢) وقياس تركيز الأجسام المضادة في الطافي بعد فصل الخلايا عنه. يشير نقص تركيز الأجسام المضادة في الطافي (١) عن تركيزها في الطافي (٢) إلى صحة نتائج تجربة البانيل.

ملاحظة هامة:-

١- تعمل الأجسام المضادة الذاتية على تكتل الخلايا الحمراء في جميع الأنابيب. يمكن التخلص من تأثير الأجسام المضادة الذاتية بمفاعلة عينة المصل مع خلاياها الحمراء حيث يمزج حجم من عينة المصل مع حجم مساوٍ من الخلايا الحمراء المكدسة وحضنها بدرجة حرارة الغرفة لمدة ساعتين.

٢- يجب اجراء فحص ضابط للخلايا المستعملة حيث يستبدل مصل العينة بالمحلول الملحي.

٣- يجب الإلمام الكامل بخصائص الأجسام المضادة المطلوب استبعادها. وفيما يلي أهم هذه الخصائص:-

أ- تتفاعل الأجسام المضادة للأنتيجينات P, N, M عندما تكون خلاياها الحمراء معلقة بالمحلول الملحي وفي درجات الحرارة الباردة بشكل جيد.

ب- تتفاعل الأجسام المضادة لـ Fy^a بمساعدة المصل المضاد للجلوبولين ويعطي نتائج سلبية بوجود الأنزيمات.

جـ- تتحلل الأنتيجينات N, M عند تفاعلها مع الأنزيمات الهاضمة للبروتين.

د ـ تتفاعل الأجسام المضادة للأنتيجينات Rh-Hr بشكل أفضل بمساعدة أنزيم البابين.

هـ ـ تكون الأجسام المضادة الناتجة عن نقل الدم أو الحمل غير كاملة عادة ويمكن الكشف عنها بشكل أفضل باستخدام أنزيم البابين أو المصل المضاد للجلوبولين أما الأجسام المضادة الطبيعية فتتفاعل بشكل أفضل في معلق المحلول الملحي.

و ـ تتفاعل بعض الأجسام المضادة مع أنتيجيناتها المتجانسة وراثياً بشكل أقوى من تفاعلها مع أنتيجيناتها غير المتجانسة فمثلاً يتفاعل Anti-M مع الأنتيجين MM بشكل أقوى من تفاعله مع الأنتيجين MN .

م ـ قد يوجد في المصل أكثر من جسم مضاد إذ تتفاعل مجموعتين أو أكثر من الخلايا الحمراء مع المصل بدون أن يكون فيها أنتيجين مشترك. يمكن التأكد من نوعية الأجسام المضادة في هذه الحالة بامتصاص الأجسام المضادة للأنتيجينات المتوقعة.

امتصاص الأجسام المضادة (Absorption)

تستخدم عملية الامتصاص لإزالة أو معادلة الأجسام المضادة الموجودة في عينات المصل. يمكن امتصاص الأجسام المضادة الموجودة في أي مصل بحضن عيناته مع معلق خلايا حمراء تحمل الأنتيجين المطلوب فصل أجسامه المضادة في الظروف التي تتلائم مع خصائصها. لذا يمكن استخدام معلق خلايا حمراء مغسولة في المحلول الملحي، خلايا حمراء بعد مفاعلتها مع الأنزيمات، أو خلايا حمراء بالفورمالين، معلق بقايا خلايا حمراء أو محلول الأنتيجين (للمعادلة). تتميز كل من المحاليل السابقة بخصائص تحدد كيفية استعماله في امتصاص الأجسام المضادة. يتم اختيار طبيعة معلق الخلايا الحمراء أو محلول الأنتيجين ودرجة حرارة الامتصاص والزمن اللازم لاكتماله بناء على خصائص الأجسام المضادة المطلوب امتصاصها من عينات المصل وعلى الغاية من امتصاصها. تتناسب كفاءة عملية الامتصاص عكسياً مع نسبة الأجسام المضادة إلى الأنتيجينات وبالتالي عكسياً مع نسبة حجم عينة المصل إلى الخلايا الحمراء المكدسة. كما تزيد كفاءة الامتصاص وسرعته إذا رافقت الحضانة عملية مزج مستمر.

تستخدم عمليات امتصاص الأجسام المضادة لتحقيق الأهداف التالية :ـ

١ـ التأكد من طبيعة الأجسام المضادة الموجودة في سوائل الجسم مثل Anti-H و $Anti\text{-}Le^{a}$ في اللعاب و Anti-I في الحليب.

٢ـ التخلص من الأجسام المضادة غير المرغوب بوجودها عند تحضير بعض محاليلها المخبرية مثل التخلص من الأجسام المضادة لأنتيجينات Rh-Hr باستثناء Anti-D عند تحضير مصل Anti-D .

٣ـ التخلص من بعض الأجسام المضادة الموجودة في المصل.

٤ـ تحسس الخلايا الحمراء وتعليمها بالأجسام المضادة.

غسل الأجسام المضادة (Elution)

تفصل الأجسام المضادة من سطح الخلايا الحمراء عن طريق غسل الخلايا الحمراء التي تحملها بالمحلول المناسب وفي درجة الحرارة المناسبة. . يجب التأكد من وجود أجسام مضادة في سطح الخلايا الحمراء باستخدام المصل المضاد للجلوبولين قبل الشروع في عملية الغسيل ومن عدم وجود أية أجسام حرة في غسول الخلايا الحمراء بعد اكتمال الغسل وذلك بمفاعلة الغسول مع معلق خلايا حمراء تحمل الأنتيجين.

يمكن غسل الأجسام المضادة من سطح الخلايا الحمراء بإحدى الطرق التالية :ـ

١ـ تغسل الخلايا الحمراء بالمحلول الملحي بدرجة ٤ م ثلاث مرات وذلك للتخلص من أي أثر لبروتينات البلازما. يحضر محلول ١٠٪ من الخلايا الحمراء المطلوب غسلها في المحلول الملحي وتمزج في درجة ٥٦ـ٦٠ م لمدة ١٠ دقائق وتفصل الخلايا الحمراء عن الغسول باستخدام الطرد المركزي في درجة ٥٦ـ٦٠ م ومن ثم ينقل الغسول الطافي إلى أنبوب آخر لإكمال الخطوات اللازمة. يحضر الغسول بمحلول ٦٪ البومين في المحلول الملحي عند الحاجة لخزن الغسول الذي يحتوي على الأجسام المضادة ويحفظ بدرجة ـ٢٠ م أو أقل. ثبتت فعالية هذه الطريقة في فصل الأجسام المضادة الكاملة IgM .

٢- بإضافة حجمين من الايثر وحجم من المحلول الملحي إلى حجم واحد من الخلايا الحمراء المكدسة بعد غسلها بالمحلول الملحي بدرجة ٤م وخض محتويات الأنبوب لمدة دقيقة بشكل عنيف. تفصل الخلايا الحمراء عن الغسول الطافي بالطرد المركزي. يتم التخلص من الايثر. ثبتت فعالية هذه الطريقة في فصل الأجسام المضادة غير الكاملة IgG وغير مناسبة لفصل الأجسام المضادة Anti-s و Anti-U . يمكن استبدال الايثر بالكحول أو الكلوفورم أو الزايلين (Xyline) أو الديجيتونين (Digitonin) أو كلوريد الميثلين (Methylene Chloride) لغسل بعض الأجسام. تغسل الأجسام المضادة من سطح الخلايا الحمراء لتحقيق أي من الأهداف التالية:-

١- التأكد من طبيعة الأجسام المضادة الموجودة في سطح الخلايا الحمراء وخاصة في حالات فقر الدم التحللي عند الأطفال حديثي الولادة، أو فقر دم المناعة الذاتية أو مضاعفات نقل الدم.
٢- لتحضير أمصال محاليل أجسام مضادة نقية خالية من الأجسام المضادة غير المرغوب فيها.
٣- للتأكد من صحة نتائج التعرف على الأجسام المضادة بطريقة المجموعات الدموية الحمراء (Panel) .
٤- لتحضير محلول خلايا حمراء لا يحمل سطحها أي من الأجسام المضادة.
٥- لإثبات وجود المجموعات الدموية الثانوية مثل Ax, Am التي تتكتل خلاياها بالأجسام المضادة Anti-A أو Anti-AB .

الكشف عن الأجسام المضادة Anti-HLA

يعتمد أسلوب البانيل للكشف عن الأجسام المضادة الخاصة بالخلايا الحمراء للكشف عن الأجسام المضادة لأنتيجينات HLA مع ضرورة اختيار الخلايا الليمفاوية من مجموعة كبيرة من المتبرعين. يستخدم حوالي ١٢-١٥ نوع من الخلايا الليمفاوية في المرحلة الأولى من التجربة وحوالي ٤٠ نوعاً من الخلايا لتحديد نوعية الأجسام المضادة بشكل دقيق.تستخدم أطباق الخلايا الليمفاوية المجمدة بسبب قصر عمرها وسرعة تحضيرها. يحتوي كل طبق على ٩٦ بئر. تقدر السعة القصوى لكل بئر بحوالي ٣٠٠-٤٠٠ ميكل.

الفصل الرابع

ـ الكشف عن انتيجينات البقع الحيوية

تجربة استنفاذ المصل المضاد لجلوبولين الإنسان

AHG Consumption Test

تعتمد هذه التجربة على قدرة جلوبولين الإنسان على تعطيل نشاط AHG الذي يصبح عاجزاً عن تكتيل الخلايا الحمراء التي تحمل جلوبولين الإنسان. يستخدم AHG الذي قوته ١٦-٣٢ مع خلايا حمراء مكسوة بالجسم المضاد Anti-D .

الخطوات العملية:-

١- تمزج العنية (مستخلص بقعة الدم) مع حجم مساوٍ من المصل المضاد AHG وتحضن بدرجة حرارة الغرفة لمدة ساعتين (T) . كما تمزج عينة سلبية (مستخلص مساحة بقعة الدم من النسيج بعيداً عن بقع الدم) مع حجم مساوٍ من المصل المضاد AHG وتحضن لمدة ساعتين بدرجة حرارة الغرفة (B) .

٢- يخفف المزيج في كل من الأنبوبتين بشكل متسلسل بالنسب $\frac{1}{٢}$ ، $\frac{1}{٤}$ ، $\frac{1}{٨}$ ، $\frac{1}{١٦}$ ، $\frac{1}{٣٢}$ وتوضع نقطة من كل تخفيف في أنبوب معايرة مصلية كما يلي:-

أ- AHG – $\frac{1}{٢}$ ، $\frac{1}{٤}$ ، $\frac{1}{٨}$ ، $\frac{1}{١٦}$ ، $\frac{1}{٣٢}$

ب- AHG + B – $\frac{1}{٢}$ ، $\frac{1}{٤}$ ، $\frac{1}{٨}$ ، $\frac{1}{١٦}$ ، $\frac{1}{٣٢}$

جـ- AHG + T – $\frac{1}{٢}$ ، $\frac{1}{٤}$ ، $\frac{1}{٨}$ ، $\frac{1}{١٦}$ ، $\frac{1}{٣٢}$

٣- يضاف إلى كل نقطة من النقط المخففة نقطة من معلق ٢٪ خلايا حمراء O+ ve مكسوة بالجسم المضاد Anti-D غير الكامل. تمزج محتويات الأنابيب بشكل جيد لمدة ٥ دقائق ويراقب التكتل في الأنابيب.

ويشير تناقص تركيز الأجسام المضادة AHG إلى ايجابية التجربة وبالتالي أن بقعة الدم خاصة بالإنسان.

تجربة التعطيل (Inhibition Test)

تستخدم هذه الطريقة للكشف عن أنتيجينات ABH في اللعاب والسائل المنوي. تعتمد هذه الطريقة على قدرة أنتيجينات اللعاب والسائل المنوي على تعطيل الأجسام المضادة لأنتيجينات ABH .

الخطوات العملية:-

١- تخفف الأمصال المضافة Anti-A و Anti-B و Anti-H المستخدمة بنسبة ١/١٦ و ١/٣٢ قبل استخدامها.

٢- يضاف حجمين (٠,٦ ملل) من كل تخفيف إلى قطعة من قماش من ثلاثة خيوط ملطخة بالبقعة (مساحة ٢ ملم^2) في أنبوب معايرة مصلية (T) ويضاف حجمين من كل تخفيف إلى مساحة ٢ ملم^2 من القماش الخالي من البقع (B) في أنبوب آخر.

٣- تحفظ الأنابيب بدرجة ٤ م لعدة ساعات أو ليلة كاملة قبل أن تعرض للطرد المركزي.

٤- يقاس تركيز الأجسام المضادة في الطافي بإضافة حجم (٠,٠٣ ملل) معلق ٢٪ خلايا حمراء A2 أو B أو O ويتم الكشف عن حدوث التكتل مباشرة أو بالمجهر.

٥- تتناسب قوة تكتل الخلايا الحمراء عكسياً مع قوة الأنتيجينات الموجودة في العينة.

تجربة التكتل المختلط (Mixed Agglutination Text)

تستخدم هذه التجربة لتحري وجود الأنتيجينات ABH في الخلايا النسيجية وتعتمد على قدرة الأجسام المضادة Anti-A و Anti-B و Anti-H على الربط بين الخلايا النسيجية والخلايا الحمراء التي تحمل نفس الأنتيجين.

الخطوات العملية:-

١- تمزج نقطتين من المصل المضاد (Anti-A و Anti-B و Anti-H) المخفف بشكل مناسب إلى نقطتين من معلق الخلايا النسيجية (تجويف الفم، الخلايا الطلائية) في الأنابيب المصلية. تمزج محتويات الأنابيب بشكل متواصل لمدة ١-٢ ساعة في درجة حرارة الغرفة أو تترك بدرجة ٤ م لمدة ليلة كاملة.

٢- تعرض الأنابيب للطرد المركزي بعد اكتمال فترة الحضانة ويفصل الطافي وتغسل الخلايا النسيجية ثلاث مرات بالمحلول الملحي.

٣- يضاف نقطتين من معلق ٥٪ خلايا حمراء تحمل الأنتيجين الخاص بالمصل المضاد وتمزج محتويات الأنابيب جيداً وتحفظ بدرجة حرارة الغرفة (٢٣°م) لمدة ٣٠ دقيقة مع الخض المتواصل.

٤- تعرض العينات للطرد المركزي بقوة ضعيفة. تمزج محتويات الأنابب جيداً ويتم التأكد من التكتل مجهرياً. تعتبر النتيجة إيجابية في حالة ارتباط الخلايا الحمراء بالخلايا النسيجية.

تجربة الغسل الدقيقة (Microelution Test)

تستخدم هذه الطريقة للكشف عن أنتيجينات البقع الدموية وخاصة أنتيجينات ABH و Rh-Hr .

الخطوات العملية:-

١- يوضع خيطين بطول ٢ ملم من القماش عند الحاجة للكشف عن أنتيجينات ABH أو ٢ ملم² من القماش عند الحاجة للكشف عن أنتيجينات Rh-Hr في أنبوب مصلي (١×٦سم) ويضاف إليها حجمين (٠,٠٦ ملل) من المصل المضاد المخفف بشكل مناسب. تقفل الأنابيب وتحفظ لمدة ١٦ ساعة في درجة ٢٤ م عند الكشف عن أنتيجينات ABH وفي درجة ٣٧ م عند الكشف عن أنتيجينات Rh-Hr .

٢- يتم التخلص من المصل بالطرد المركزي وتغسل خيوط النسيج خمسة مرات بالمحلول الملحي المثلج. تحفظ الأنابيب خلال عملية الغسيل بدرجة ٤ م. تغسل الخيوط آخر مرة باستخدام خليط بارد كالثلج من محلول ٣٠٪ بوفاين مخفف بنسبة ١:١٠٠ بالمحلول الملحي. تستغرق عملية الغسل حوالي ٢-٣ ساعة. يراعى التخلص من كامل السوائل في كل عملية غسيل.

٣- يضاف حجم أو حجمين من الألبومين المخفف لكل أنبوب وتحفظ لمدة ١٠ دقائق في حمام مائي بدرجة ٥٥-٦٠ م.

٤- يضاف إلى كل انبوب بعد فترة الحضانة السابقة معلق خلايا حمراء في الألبومين تركيزه ٠,٣٪ بدون اخراج الخيوط. تزيد حساسية التجربة كلما قل تركيز معلق الخلايا الحمراء الذي يفضل أن يكون حوالي ٠,٥٪ في حالة ABH و٠,٠٥٪ في حالة Rh-Hr و١٪ في حالة agh . كما قد يعامل معلق الخلايا الحمراء بأنزيم البابين عند الحاجة لزيادة الحساسية في الكشف عن أنتيجينات Rh-Hr .

٥- تمزج محتويات الأنابيب وتحفظ لمدة ١-١,٥ ساعة في درجة الحرارة المناسبة (درجة ٣٧م في حالة Rh-Hr ودرجة حرارة الغرفة في حالة ABH).

٦- تعرض الأنابيب لقوة الطرد المركزي للتخلص من الطافي. يعاد تعليق الخلايا الحمراء للتأكد من حدوث التكتل باستخدام المجهر.

الفصل الخامس

- تجارب مخبرية خاصة بـ
- الكشف عن التهاب الكبد الفيروسي Microelisa
- الكشف عن نقص المناعة المكتسبة Microelisa
- الكشف عن السيفلس VDRL

تجربة الميكروأليزا

Microelisa Test

تعتمد طريقة المكروأليزا للكشف عن الأنتيجينات أو الأجسام المضادة على الربط بين التفاعلات المصلية مع نشاط بعض الأنزيمات وخاصة بيروكسيديز فجل الحصان (HRP) التي تنشط عند اكتمال التفاعل المصلي. تثبت الأجسام المضادة أو الأنتيجينات التي تتناسب مع تلك المطلوب الكشف عن وجودها على السطوح الداخلية لقواعد حجرات صحائف الميكروأليزا. يتفاعل أنزيم البيروكسيديز بعد تنشيطه مع لقيم مناسب يتحول إلى ناتج ملون.

الكشف عن الالتهاب الكبد الفيروسي

تستخدم طريقة ميكروأليزا Microelisa للكشف عن الفيروس Australian Antigen الذي يرمز له بـ HBsAg ويسبب التهاب الكبد الفيروسي. تم اعتماد هذه الطريقة للمساعدة على تشخيص مرضى التهاب الكبد الفيروسي ولاستبعاده من مخالطيهم كالفنيين والممرضين والأطباء ومن المتبرعين بدمائهم.

المبدأ العلمي:- تتفاعل الأجسام المضادة للأنتيجين (Anti- HBsAg) المثبتة في السطوح الداخلية لقواعد حجرات صحائف الميكروأليزا مع الأنتيجين HBs-Ag في حالة وجوده في العينة. يضاف إلى الحجرات بعد غسلها من آثار العينة نقطة من مصل الأغنام المضاد للأنتيجين والمرتبط بانزيم البيروكسيديز (HRP) . ينشط انزيم البيروكسيد المرتبط بالأجسام المضادة عند اكتمال التفاعل المصلي مع أنتيجين العينة المثبت في السطوح الداخلية لقواعد الحجرات. يتفاعل انزيم البيروكسيد بعد تنشيطه مع اللقيم O-Diphenyl diamine dichloride ويظهر اللون الأصفر البرتقالي.

الكشف عن نقص المناعة المكتسبة (AIDS)

تستخدم طريقة المكيروااليزا Microelisa للكشف عن الأجسام المضادة لفيروس نقص المناعة المكتسبة (IDV) الذي يعيق قدرة المجموعة الثالثة (III) من الخلايا الليمفاوية الثايموسية (T) على تكوين الأجسام المضادة.

تم اعتماد طريقة الميكروااليزا لتشخيص مرضى نقص المناعة المكتسبة ولاستبعاده من مخالطيهم كالفنيين والممرضين والأطباء ومن المتبرعين بالدم.

المبدأ العلمي:- يتفاعل فيروس نقص المناعة المكتسبة الذي يرمز له بـ HTLV-III والمثبت في السطوح الداخلية لقواعد حجرات صحائف الميكروااليزا مع أجسامه المضادة في حالة وجودها في العينة. تغسل حجرات الميكروااليزا للتخلص من آثار جاما جلوبولين العينة الحرة يضاف إليها نقطة من مصل كومب المضادة للجلوبولين الذي يرتبط بأنزيم البيروكسيديز (HRP) غير المنشط. يتفاعل مصل كومب المضاف مع الأجسام المضادة في حالة ارتباطها مع أنتيجيناتها المثبتة في سطح الحجرات ويرافق هذا التفاعل المصلي تنشيط أنزيم البروكسيديز. يتفاعل أنزيم البروكسديز المنشط مع اللقيم O-Diphenyl diamine dichloride ويظهر اللون الأصفر البرتقالي.

عند الكشف عن التهاب الكبد الفيروسي أو مرض نقص المناعة المكتسبة يجب التقيد باجراءات السلامة التالية:-

١- منع تواجد غير المعنيين في أماكن فحص العينات.
٢- الإشارة بعلامة (خطر جداً) إلى العينات الإيجابية أو المشكوك بإيجابيتها.
٣- التعامل مع العينات الخطرة جداً في حجرات السلامة المجهزة بالمرشحات المناسبة.
٤- ارتداء الملابس والأكف والأقنعة البلاستيكية أثناء فحص العينات.
٥- عدم القيام بأي نشاط كتابي في مكان الكشف.
٦- تجنب استخدام الأدوات الحادة ما أمكن.

٧ـ التخلص من بقايا العينات والمواد المستخدمة في الكشف بحرقها بشكل كامل بعد غمسها بمحلول ١٪ هيبوكلورايت.
٨ـ عدم تناول الطعام والشراب في مواقع العمل.
٩ـ غسل الأرض وأماكن العمل وأدواته بمحلول ١٪ هيبولكوريث.

تجربة VDRL

تستخدم هذه التجربة لاستبعاد مرض الزهري من المتبرعين باتباع الخطوات التالية :ـ

١ـ تكسّل عينات المصل بوضعها في حمام مائي بدرجة ٥٦م لمدة نصف ساعة.
٢ـ تضاف نقطة من المصل المكسّل إلى نقطة من محلول الأنتيجين في أنبوبة معايرة مصلية. تمزج محتويات الأنبوبة بشكل جيد لمدة ٤ دقائق.
٣ـ يتم استبعاد التكتل مجهرياً وتدون النتائج كما يلي :ـ
أـ يشير عدم ظهور أي تكتل إلى غياب الزهري من المتبرعين.
ب ـ يشير ظهور تكتل ضعيف ومتجانس التوزيع إلى ايجابية ضعيفة.
جـ ـ يشير ظهور تكتل قوي وغير متجانس إلى ايجابية قوية.

يمكن استبدال تجربة VDRL بأي من تجارب كان أو واسيرمان.

يتم استبعاد مرض الزهري من العينات الإيجابية لأي من التجارب السابقة بسلبية تجربة Treponema pallidum Immobilzation -- TPI .

يحضر محلول أنتيجين تجربة VDRL بمزج ٠,٥ ملل من أنتيجين VDRL بـ ٠,٤ ملل من منظم ملحي بشكل بطيء مع المزج الدائم لمدة ١٠ ثوان ثم يضاف إلى المحلول بشكل تدريجي مع الخض المتواصل ٤,١ ملل منظم المحلول الملحي، ثم تقفل الزجاجة سعة ٣٠ ملل بشكل محكم وتمزج محتوياتها بشكل عنيف لمدة ١٠ ثوان اخرى. يحفظ محلول الأنتيجين بدرجة ٤م حتى الحاجة ويفضل تجديده كل أسبوع.

الفصل السادس

- المحاليل والأمصال المستخدمة في بنك الدم
- الرموز العربية المستخدمة ودلالتها اللاتينية
- المراجع

المحاليل والأمصال المستخدمة في بنك الدم

المحاليل الفسيولوجية

تستخدم المحاليل الفسيولوجية في تحضير معلق الخلايا والمحافظة عليها لأنها متعادلة اسموزيا (Isotonic) . وفي ما يلي أهم هذه المحاليل:-

١- المحلول الملحي الفسيولوجي (Normal Saline) :- هو محلول ٠,٨٩٪ كلوريد الصوديوم ويحضر بإذابة ٨,٩ غم كلوريد الصوديوم (NaCl) نقي في الماء المقطر ويخفف المحلول الناتج إلى لتر واحد بالماء المقطر. يستخدم المحلول الملحي الفسيولوجي في غسل الخلايا الحمراء وتحضير محاليلها. كما ينقل للمرضى عن طريق الوريد في حالات الجفاف الحادة.

٢- محلول ٣,٨٪ سترات الصوديوم:- يحضر هذا المحلول المتعادل اسموزياً بإذابة ٣٨غم من سترات الصوديوم النقية وتخفيفها إلى لتر واحد بالماء المقطر.

٣- محلول منظم السترات (Citrate Buffer) :- يحضر محلول منظم السترات بإذابة المواد التالية بالماء المقطر ومن ثم يُخفف المحلول إلى ٦٠٠ ملل بالماء المقطر:
١٩,٤ غم ثلاثي بوتاسيوم السترات ($K_3C_6H_5O_7.H_2O$)
+ ٣,٢- غم احادي صوديوم الفسفات ($NaH_2PO_4.2H_2O$)
+ ٢,٩- غم ثنائي صوديوم الفسفات ($Na_2HPO_4.2H_2O$)
يستخدم محلول منظم السترات لتحضير محاليل جليسرول خاصة بحفظ معلق الخلايا الحمراء مجمدة.

٤- محلول السيفر (Alsever) :- يستخدم محلول الالسيفر في جمع وحفظ الخلايا الحمراء ويحضر بإذابة ما يلي في الماء المقطر وتخفيف المحلول إلى لتر واحد بالماء المقطر ورقمه الهيدروجيني يساوي ٦,١

٢,٠٥ غم ديكستروز
٠,٨٠ غم سترات الصوديوم.
٠,٥٠ غم كلوريدا الصوديوم.

٥- **محلول مصـل الـلاكتـوز (Serum lactose)** :- يحضـر مصل اللاكتوز بمزج حجمين متساويين من محلول اللاكتوز ومصل المجموعة الدموية AB . يحضر محلول اللاكتوز بإذابة ما يلي في ١٠٠ ملل ماء مقطر.

١٠,٠ غم لاكتوز
٠١,٥٣ غم ديكستروز
١,٥٨ غم سترات الصوديوم
٠,٥٠ غم حامض سيتريك.

موانع التجلط الحافظة لوحدات الدم

١- **محلول ديكستروز السترات (Acid Citrate Dextrose = ACD)** :- يحتوي اللتر الواحد من محلول ACD على ما يلي :-
سترات الصوديوم ٢٢,٠ غم
حامض السيتريك ٠٨,٠ غم
ديكستروز ٢٤,٥ غم

٢- **محلول ديكستروز سترات الفسفات (Citrate Dextrose Phosphate = CPD)** :- يحتوي اللتر الواحد من محلول CPD على ما يلي :-
سترات الصوديوم - ٢٦,٣ غم
حامض السيتريك - ٠٣,٢٧ غم
ديكستروز - ٢٥,٥ غم
فسفات الصوديوم (NaH_2Po_4) - ٠٢,٢٢ غم

٣- **محلول ديكستروز سترات فسفات الادينوسين**
(CPDA = Citrate- Phosphate Dextrose Adcnosine) :- يحـضـر محلول (CPDA) بإضافة ٢٧٥,٠غم من الأدنين إلى اللتر الواحد من CPD .

محاليل الأنزيمات

١- تحضير محلول البروميلين (Bromelin) :- يحضر محلول ٠,٥٪ أنزيم البروميلين في المحلول الملحي الفسيولوجي. يفضل استخدام المحلول في نفس اليوم الذي يحضر فيه بالرغم من أنه يستخدم بشكل فعال خلال شهر من تحضيره إذا حفظ بدرجة ٤م. لذا يفضل وزن عدة وزنات ٠,٠٥غم من مسحوق البروميلين توضع كل وزنة منها في زجاجة محكمة الإغلاق. تذاب محتويات كل زجاجة في ١ ملل من المحلول الملحي قبل الاستخدام مباشرة.

٢- تحضير محلول التربسين (Trypsin) :- يحضر محلول التريبسين بإذابة ٠,١غم من بلورات التريبسين في ١٠ ملل من محلول ٠,٠٥ مول حامض الهيدركلوريك. يحتفظ هذا المحلول بنشاطه لعدة شهور بدرجة ٤م. يخفف المحلول قبل الاستخدام إلى ١٠ أضعاف حجمه بمحلول ٠,١ مول منظم الفسفات.

يحضر محلول منظم الفسفات بإضافة حجم من ١و٠ مول KH_2PO_4 (١٣,٦غم/لتر) إلى ١٠ أحجام من محلول ٠,١ مول Na_2HPO_4 (١٤,٢ غم/لتر). ويضاف ٨غم كلوريد الصوديوم إلى كل لتر من المزيج. يساوي الرقم الهيدروجيني للمحلول المنظم ٧,٧.

٣- تحضير محول البابين بطريقة لو (Low's Preparation of Papain Sln) :- يُسحق ٢ غم من أنزيم البابين مع محلول ملحي منظم رقمه الهيدروجيني ٥,٤ ويخفف حتى ١٠٠ ملل، يرشح المحلول ويضاف ١٠ ملل من محلول ١ مول سيستينات الصوديوم المتعادل ويخفف المحلول بواسطة المحلول الملحي المنظم إلى ٢٠٠ ملل ويوضع المزيج في درجة ٣٧م لمدة ساعة من الزمن. يوزع المزيج في حاويات مناسبة ويحفظ مجمداً في درجة ٢٠م تحت الصفر.

يحضر المحلول الملحي المنظم بإضافة

-,٤٠ ملل من محلول ٠,١ مول Na_2HPO_4 (١١,٩٣غم/لتر).

إلى -,٩٦٠ ملل من محلول ٠,١ مول KH_2PO_4 (٩,٠٧غم/لتر)

-,٨٠غم كلوريد الصوديوم.

أمـا سيستينـات الصوديوم المتعادل فيحضر بإضافة ٥ ملل من محلول ١ مول هيدروكسيد الصـوديوم (٤٠غم/لتـر). يجب قياس معـادلة السيستين بهيدروكسيد الصوديوم بواسطة جهاز قياس الرقم الهيدروجيني أو بواسطة ورق عباد الشمس.

٤ـ تحضير محلول الفيسين (Ficin) :ـ يجب التعـامل مع مسحوق الفيسين بحـرص كامـل لأنـه يسبب تلف في الأغشية المخـاطية. لذا يوزن عدة وزنـات ٢٥٠ ملغم من مسحـوق الفيسن وتحفظ جافة في أوعية محكمة الإغلاق. تذاب ٢٥٠ ملغم من الفيسين في ٢٥ ملل من محلول منظم هندري (ر.هـ٧,٤) الذي يحضر بإضافة

١٩ ملل من محلول ٢,٣٤٪ $NaH_2PO_4.2H_2O$ إلى

٨١ ملل من محلول ١,٦٣٪ من $Na_2HPO_4.2H_2O$

تحضير محاليل معلق الخلايا الحمراء

تحضر محاليل الخلايا الحمراء في المحلول الملحي بنسبة ٢٪ أو ٥٪ أو ١٠٪ أو ٥٠٪ بناء على طبيعة التجربة كما يلي:ـ

- يضاف ٥ ملل محلول ملحي في أنبوبة سنترفيوج ويضاف إليها عدة نقط من دم حديث السحب من الوريد أو ثقب الجلد.
- ترسب الخلايا الحمراء بالطرد المركزي ويتم التخلص من المحلول الملحي الذي يمثـل غسـول الخلايا الحمراء وتملأ مرة اخرى بمحلول ملحي جديد يمزج مع الخلايا الحمراء التي ترسب بالطرد المركزي.
- تتكرر العملية السابقة (غسيل الخلايا الحمراء) ثلاث مرات يعاد تركيز محلول الخلايا الحمراء بناء على التركيز المطلوب بالتحكم بكمية المحلول الملحي المضافة.
- يمكن استبدال المحلول الملحي بعد غسل الخلايا الحمراء بالمصل أو بالألبومين لتحضير مختلف محاليل الخلايا الحمراء حسب الطلب.
- تحفظ محاليل الخلايا الحمراء في درجة ٤ـ٦م لمدة ١٢ ساعة على أن لا يتحلل أي جزء منها.

تحضير محلول خلايا حمراء مجمدة

يستخدم محلول الجليسرول في حفظ الخلايا الحمراء النادرة أو الخالية من الأنتيجينات مجمدة لفترات زمنية طويلة. يحضر محلول الجليسرول ومنظم السترات الذي يستخدم في تحضير مختلف محاليل الجليسرول والسترات الازمة لحفظ الخلايا الحمراء المجمدة وللتخلص من الجليسرول بعد تمييعها وهي كما يلي:-

١- يحضر محلول ٦٠٪ جليسرول بإضافة ٦٠ ملل جليسرول إلى ٤٠ ملل من منظم السترات. كما يحضر محلول ٢٠٪ جليسرول بإضافة ٢٠٪ ملل جليسرول إلى ٨٠ ملل من منظم السترات.

يستخدم محلول ٢٠٪ جليسرول في تحضير المحاليل التالية:-

أ- ١٦٪ جليسرول يحضر بمزج ١٦ ملل. ٢٠٪ جليسرول + ٤ ملل منظم السترات.

ب- ٨٪ جليسرول يحضر بمزج ٨ ملل. ٢٠٪ جليسرول + ١٢ ملل منظم السترات.

جـ- ٤٪ جليسرول يحضر بمزج ٤ ملل. ٢٠٪ جليسرول + ١٦ ملل منظم السترات.

د- ٢٪ جليسرول يحضر بمزج ٢ ملل. ٢٠٪ جليسرول + ١٨ ملل منظم السترات.

تحفظ محاليل الجليسرول السابقة مجمدة حتى الحاجة إليها. وفيما يلي الخطوات المستخدمة في حفظ الخلايا الحمراء مجمدة.

١- تغسل الخلايا الحمراء بالمحلول الملحي ثلاث مرات. ويمزج كل من الخلايا الحمراء المكدسة مع ٥ ملل من محلول ٢٠٪ جليسرول. يتبع ذلك إضافة ٥ ملل محلول ٦٠٪ جليسرول بشكل تدريجي وبطيء مع المزج المستمر.

٢- يوزع محلول الخلايا الحمراء في الجليسرول في أنابيب أو زجاجات مناسبة بنسبة ٢، ٠ - ٥، ٠ ملل وتغلق كل منها بشكل محكم وتحفظ مجمدة بدرجة ٢٠م تحت الصفر.

يمكن استخدام العينات المجمدة بوضعها بدرجة حرارة الغرفة وتعريضها للطرد المركزي بعد تميعها للتخلص من الجليسرول لمدة ٣ دقائق بسرعة ١٢٠٠د/د.

يضاف إلى الخلايا الحمراء المكدسة حجم مساوٍ من ١٦٪ جليسرول وتمزج جيداً وتعرض للطرد المركزي بسرعة ١٢٠٠د/د لمدة ٣ دقائق للتخلص من الجليسرول. تتكرر عملية غسل الخلايا الحمراء بحجم مساوٍ من محاليل ٨٪ و٤٪ و٢٪ جليسرول بنفس الطريقة السابقة. تغسل الخلايا الحمراء بالمحلول الملحي نهائياً للتخلص من آثار الجليسرول.

تحضير معلق الخلايا البيضاء

Leucocytes Solution

يمكن تحضير معلق الخلايا البيضاء لاستخدامه في الكشف عن أجسامها المضادة باتباع الخطوات التالية:-

١- يضاف ١ ملل من محلول ٥٪ ديكستران أو محلول polyvinyl purolidone أو ٣٪ جيلاتين إلى ٤ ملل دم مجموع على EDTA في أنبوبة طرد مركزي مخروطية الشكل وتمزج جيداً.

٢- توضع الأنبوبة بزاوية ٤٥ في درجة ٣٧م لمدة نصف ساعة حتى تترسب الخلايا الحمراء.

٣- ينقل حوالي ٨٠٪ من طافي العينة إلى أنبوبة طرد مركزي بلاستيكية. تظهر البلازما الغنية بالخلايا البيضاء متعكرة غير شفافة.

٤- تعرض محتويات الأنبوبة لقوة طرد مركزي بسرعة٥٠٠٠د/د ولمدة ٣ دقيقة. يعاد تعليق راسب الخلايا البيضاء ببعض البلازما بحيث يقدر عددها بحوالي ٥٠٠٠-١٠٠٠٠/ ملم٣.

تحضير معلق الخلايا الليمفاوية

يمكن تحضير معلق الخلايا الليمفاوية بشكل نقي من المحببات والخلايا الحمراء باتباع الخطوات التالية:-

١- يعرض ٢ ملل دم مجموع على EDTA لقوة طرد مركزي ٣٥٠٠ج/د ولمدة دقيقتين.

٢- تنقل البلازما الغنية بالخلايا البيضاء إلى أنابيب طرد مركزي تحتوي على ٠,٦ ملل من المصل المضاد لأنتيجينات الخلايا الحمراء بناءاً على نظام ABO

. تمـزج محتـويات الأنـابيب وتكـدس الخـلايا الحمـراء المتكتلة بعد دقيقتين بتعريضها لطرد مركزي بقوة ١٠٠٠ج/د لمدة ٧ ثوان.

٣- ينقل الطافي ويوضع بلطف وبدون اسقاط على شكل طبقة فوق ٠,٣ ملل من محلول فيكـول هايباك (Ficoll-Hypaque) لتجنب الخلط بينهما في أنبوبة طرد مركزي. تعرض محتويات الأنابيب لقوة طرد مركزي ٣٥٠٠ج/د وتبقى الخلايا الليمفـاوية في سطح التمـاس والصفـائـح الدموية في طافي الأجسام المضادة Anti-ABH .

٤- تعلق الخلايا البيضاء الموجودة في سطح التماس في أنابيب طرد مركزي سعتها ١ ملل مع ٠,٤ ملل من محلول الكلوين المطور (Modefied Choline) بمحلول ٥٪ من مصل العجل الرضيع. يجمع سطح التماس كاملاً بحيث لا يمزج مع محلول فيكول هايباك أو مع الطافي.

٥- يتم التخلص من الصفائح الدموية بالطرد المركزي بقوة ١٠٠٠ج/د لمدة دقيقة واحدة حيث يتم التخلص من الصفائح الدموية الموجودة في الطافي. ويعاد تعليق الخلايا الليمفاوية في ١ ملل من الكولين المطور ويعرض محلول الخلايا لقوة طرد مركزي لمدة دقيقة واحدة وبقوة ٥٠٠٠ج/د.

٦- يعاد تعليق قرص الخلايا حيث تكتلت المحببات المتبقية التي يتم التخلص منها بالـطرد المـركـزي بقوة ١٠٠٠ج/د لمدة ٤ ثوان. ينقل الطافي إلى أنبوب آخر ويعدل عدد الخلايا الليمفاوية إلى حوالي ١ مليون/ملل.

زيادة نسبة الخلايا النخاعية (B) في معلق الخلايا الليمفاوية

عند الحاجة للكشف عن أنتيجينات العوامل D/DR يجب زيادة نسبة الخلايا النخاعية (B) في معلق الخلايا الليمفاوية أو اتباع اسلوب ثنائية الألوان المشعة. يمكن زيادة نسبة الخلايا النخاعية (B) باتباع أي من الطرق التالية:-

١- الالتصاق بألياف النايلون:-

تتميز الخـلايا النخـاعية (B) ووحيدات النواة بمقدرتها على الالتصاق بألياف النايلون عندما تحضن مع معلق فيكول هايباك للخلايا الليمفاوية. يتم التخلص من الخلايا الليمفاوية الثايموسية (T) غير الملتصقة بغسل الياف النايلون. تجمع الخلايا الليمفاوية النخاعية (B) بالخض الشديد في الوقت الذي تبقى فيه وحيدات النواة

ملتصقة بألياف النايلون. يعتبر هذا الأسلوب المفضل من قبل معظم المختبرات لاثراء معلق الخلايا الليمفاوية بالخلايا النخاعية B لبساطته وسرعة تطبيقه ولأنه لا يحتاج إلى أجهزة خاصة.

٢- فصل الخلاياالثايموسية (T) باتحادها مع خلايا الأغنام:-

يحتوي سطح الخلايا الثايموسية (T) على مواقع ارتباط ضعيفة بخلايا الأغنام الحمراء التي تتجمع حول الخلية الثايموسية (T) . تتجمع كتل الخلايا الثايموسية والحمراء المرتبطة بها في سطح التماس في معلق فيكول هاياباك. يصعب الحصول على معلق خلايا نخاعية (B) بدرجة نقية بسبب ضعف ارتباط خلايا الأغنام مع الخلايا الثايموسية لأنها تتحلل عند زيادة قوة الطرد المركزي.

٣- استخدام الأجسام المضادة لجلوبولين الإنسان (AHG) :-

يمزج معلق فيكول هاياباك للخلايا الليمفاوية في كؤوس يغطي سطحها الداخلي طبقة من المصل المضاد لجلوبولين الإنسان الذي يتفاعل مع الخلايا الليمفاوية النخاعية ويثبتها في سطح الكؤوس وتغسل الكؤوس لإزالة الخلايا الثايموسية (T) . تجمع الخلايا النخاعية من سطح الكؤوس بمصل غني بجلوبولين المناعة الذي يحل محل الخلايا النخاعية. يوفر هذا الأسلوب معلقاً نقياً من الخلايا النخاعية لذا يستخدم في الأبحاث العلمية ولا يستخدم في الممارسات العملية لأنه مكلف.

تحضير محلول فيكول هاياباك (Ficoll Hypaque)

يحضر هذا المحلول بإضافة ٢٤ حجم من محلول فيكول (أ) مع ١٠ أحجام من محلول هاياباك (ب). يحضر محلول فيكول (أ) بإذابة ٠,٩٢٥ غم فيكول في ١٠٠ ملل ماء مقطر. كما يحضر محلول هاياباك بإضافة ٢٠ ملل من محلول ٧٥٪ Na-Metrizoate إلى ٢٤ ملل ماء مقطر بحيث يكون تركيز المحلول النهائي بحوالي ٣٣,٩٪

تحضير محلول البنزيدين (Benzidine)

يجب التعامل بحذر شديد مع البنزيدين واستخدام البديل إن وجد. يحضر محلول البنزيدين عند الحاجة بإذابة ٢٥ ملغم من مسحوق البنزيدين و ٢٠٠ ملغم فوق أكسيد الباريوم في ١٠ ملل من محلول ٥٠٪ حامض الخل. يجب تحضير المحلول قبل استخدامه مباشرة.

تحضير محلول كاسيلماير (Kastlemyer Soln)

يحضـر محلول كاسيلمـاير بإذابـة ٢ غم فينـول فيثالين (Phenolphethalin) و٢٠ غم من هيدروأكسيد البـوتـاسيوم في ١٠٠ ملل ماء مقـطر باستخدام التقطير الراجع (Reflux) وبوجود ١٠-٢٠ غم من مسحوق أو حبيبات الخارصين لمدة ساعة تقريباً (حتى اختفاء اللون الأحمر). يحفظ المحلول بزجاجات بنية في درجة حرارة الغرفـة أو مجمـداً بدرجـة ٢٠°م تحت الصفر. يمزج المحلول بحجم مساوٍ من الكحول الميثيلي ويضاف إلى المزيج ٢-٣ نقط من فوق أكسيد الهيدروجين قبل استخدامه للكشف عن وجود الهيموجلوبين مباشرة.

تحضير منظم الباربتيورات (ر.هـ ٨,٦)

١- **منظم هلام الأجار:-** يذاب ٣,٣٢ غم من حامض Barbituric A و٢١,٠٢ غم من باربتـون الصـوديوم (Na-Barbitone) و٣,٠٧ غم من لكتـات الكـالسيوم (Ca-Lactate) في الماء المقطر ويخفف المحلول إلى ٢ لتر. يضاف للمحلول ٢ ملل من محلول ١٪ merthiolate لحفظه.

٢- **منظم الأقطاب:-** يذاب ٢,٧٦ غم من حامض Barbituric A و١٧,٥٢ غم من باريتـون الصوديوم و٣,٠٧ غم من لكتات الكالسيوم في الماء المقطر ويخفف المحلول إلى ٢ لتر. يضاف للمحلول ٢ ملل من محلول ١٪ merthiolate لحفظه.

تحضير منظم السترات (ر.هـ ٨,٦-٨,٨)

يستخدم هذا المنظم لتحضير هلام النشا ويحضر بإذابة ٩,١٥ غم من مسحوق Tris و١,٠٥ غم حامض السيتريك (Citric Acid) في الماء المقطر ويخفف الخليط إلى لتر واحد بالماء المقطر.

تحضير منظم البورات (ر.هـ ٧,٨-٨)

يحضـــر هذا المنــظم بإذابــة ٢٧,٨ غم حامض بوريك مع ٣,٠٠ غم من هيدروكسيد الصوديوم ويخفف الخليط إلى ١,٥ لتر بالماء المقطر.

تحضير هلام النشاء

يحضر محلول ١٣٪ هلام النشا باستخدام منظم السترات (ر.هـ ٨,٧). تكفي

١٠٠ ملل من هلام النشاء لتحضير شريحة هلام النشا أبعادها ١١×١١×٠,٧سم تكفي للترحيل الكهربائي لـ ٨ عينات.

تحضير هلام الأجار

يضاف ٦ غم من الأجار إلى ٣٠٠ ملل من الماء المقطر ويسخن المزيج حتى الغليان مع التحريك المستمر ويضاف للمحلول ٢٠٠ ملل من منظم الباريتون (ر.هـ ٨,٦) مع ١٠٠ ملل من الماء بدرجة ٦٠ م. يضاف للمزيج ٦ ملل من محلول ١٪ merthiolate لحفظها بدرجة حرارة الغرفة.

تحضير محلول صبغة Amid Schartz

يذاب ٠,٥غم من 10-Amido Black في ١٠٠ ملل من خليط الإيثانول وحامض الخل بنسبة ٩٠ ملل + ١٠ ملل على التوالي.

تحضير المنظم الملحي الخاص بأنتيجين VDRL (ر.هـ ٦ ± ٠,١)

تذاب المواد التالية بالماء المقطر

٠,٠٩٣ غم $Na_2HPO_4.12H_2O$

و ٠,١٧٠ غم من KH_2PO_4

و ١٠,٠٠ غم من NaCl

و ٠,٥ ملل formaldehyale

ويخفف المحلول إلى لتر واحد بالماء المقطر.

الأمصال

١- يجب أن تتوفر الشروط التالية في الأمصال اللازمة لتحديد المجموعات الدموية في نظام ABO ونظام Rh-Hr :-

أ- خلوها من الأجسام المضادة الباردة.

ب - خلوها من الأجسام المضادة غير المتوقعة.

جـ - عدم مساهمتها في تكوين التكتل الكاذب (Raulex) للخلايا الحمراء.

د - يجب أن تكون صافية وخالية من أي تعكير أو لون غير اللون المميز لها (اللون الأزرق Anti-A واللون الأصفر Anti-B ومصل خالٍ من أي لون كما هو الحال في الأجسام المضادة لأنتيجينات Rh-Hr).

هـ ـ خلوها من البروتينات المكملة (Complement Proteins) .

و ـ يجب أن يتطابق تركيز أجسامها المضادة (Titre) مع المواصفات القياسية العالمية كما يلي :ـ

- تركيز (Titre) الأجسام المضادة Anti-A و Anti-B > ٢٥٦ .
- تركيز (Titre) الأجسام المضادة Anti-D و Anti-C و Anti-E و Anti-c > ٣٢ .

٢ـ محلول البومين (Bovine Albumin) تركيزه ٢٢٪ أو ٣٠٪ .

٣ـ المصل المضاد لجلوبولين الإنسان (مصل كومب) A.H.G :ـ يجب التأكد من صلاحيته قبل استخدامه عن طريق مفاعلته مع محلول خلايا حمراء O+ ve تحمل في سطحها Anti-D .

تحفظ الأمصال بدرجة ٤ م حتى تاريخ انتهاء صلاحيتها أو تلفها.

الرموز العربية المستخدمة ودلالتها اللاتينية

- ملغم = mg
- غم = gm
- ميكغم = μg
- ملك = ميكرون = μ
- مميك = mu
- ميكل = μl
- ملل = ml
- مول = mol = وزن جزيئي / لتر
- ميكمول = μ mol
- ملمول = m mol
- دل = DL
- د/د = دورة / الدقيقة
- ج/د = جاذبية / دقيقة
- م = مئوية

المراجـــع الأجنبيـــة

1. Blood Groups Serolgy, 5th Ed., 1977. By Kathleen E. Booman, Barbara E. Dodd, R.J. Lincolin. Published by Churchill-Livingstone, Edinbergh-London-New york.

2. Clinical Diagnosis & Management by Labaratory Methods., 7th Edition, 1984. By John Bernard Henry. Published by W.B.Saunders Co., London-Philadelphia.

3. Experimental Foundation of Modern Immunology. 2nd Edition, 1983. By William B. Clark. Published by John Wiley & Sons, New york, U.S.A.

4. Grandwhol's Clinical Labaratory Methods & Diagnosis, vol.I. 8th Edition, 1980. By Alex C. Sonnewirth, Leonard Jarett. Published by the C.U. Mosby Company, St. Louis, Toronto-London.

5. Lymphocytes, A Practical Approach. 1st Edition, 1987. By G.G. Klaus. Published by IRL Press OXford, Washington, D.C.

6. Practical Hematology. 5th Edition, 1982. By J.V. Dacie, S.M. Lewis. Published by English Language Blood Society, K.J.& A. Churchill Ltd., London

7. Text Book of Clinical Pathology. 7th Edition, 1969. By Seward E. Miller. Published by Williams & Wilkens Co., Baltimore, U.S.A.

8. Todd-Sanford Clinical Diagnosis by Lab aratory Methods. 14th Edition, 1969. By Israel Davidson, John Bernard Henry. Published by W.B. Saunders Company. Philadelphia, London-Toronto.

9. Wintrobe Clinical Hematology. 8th Edition, 1981. By Maxwell M. Wintrobe & Contributors. Published by LEA & Febiger, Philadelphia.